



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE SALADA MISTA MINIMAMENTE
PROCESSADA CONSTITUÍDA POR ALFACE ROXA (*Lactuca sativa* L. var.
pira roxa), ACELGA (*Beta vulgaris* L.) E ALFACE AMERICANA (*L. sativa* L.
var. “*Tainá*”)**

ACADÊMICO: DIEGO ADÍLIO DA SILVA
ORIENTADORA: PROFESSORA Dr^a. ROSETE PESCADOR

FLORIANÓPOLIS

2012

Diego Adílio da Silva

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE SALADA MISTA MINIMAMENTE
PROCESSADA CONSTITUÍDA POR ALFACE ROXA (*Lactuca sativa* L. var.
pira roxa), ACELGA (*Beta vulgaris* L.) E ALFACE AMERICANA (*L. sativa* L.
var. “*Tainá*”)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Professora Dr^a. Rosete Pescador

Supervisor: Professor Dr. Marcelo A. G. Carnelossi

Florianópolis

2012

Tu a quem tomei desde os fins da terra, e te chamei dentre os seus mais excelentes, e te disse: Tu és o meu servo, a ti escolhi e nunca te rejeitei. Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.

Isaías 41:9-10

AGRADECIMENTOS

A Deus, o Único de receber toda honra e glória, Àquele que nunca me desamparou quando o mar estava agitado, quando tudo parecia contrário, me deu forças e me confortou em Seus Braços para lograr êxito em mais uma fase de minha vida.

Aos meus pais Adílio e Cátia pela educação que me deram e por todo apoio prestado quando as intempéries do dia-a-dia me faziam pensar em desistir.

Aos meus avós Manoel e Joceni por me tratarem não como um neto e sim como um filho, onde juntamente com meus pais moldaram minha educação, aconselhando-me e transmitindo-me todo o conhecimento angariado por toda vida, ajudando-me a percorrer e desviar dos obstáculos que haviam no caminho durante esta caminhada.

Aos meus tios e tias: Cida, Olívia, Hildo e Vilson pelo carinho e pelos conselhos dados que tanto edificaram meu ser.

A minha madrastra Juliana, pessoa essencial na minha vida e, principalmente, na vida de meu pai. Sempre serei grato por teres te dedicado com tanto amor a ele, salvando-lhe a vida.

A minha namorada Ana, a qual me ajudou a evoluir, tornando-me uma pessoa melhor. Obrigado por acreditar no nosso amor e por não me reprimir, e sim me escutar nos momentos de aflição. Eu te amo!

Aos meus irmãos, Nathan, Guilherme, Pedro Henrique e Igor, que apesar da distância de alguns destes me ensinaram e muito, contribuindo na formação de meu caráter.

Ao meu primo Tiago e primas Tatiane, Carolina e Camila pela amizade e apoio prestados em todos os momentos que necessitei.

Ao meu amigo e primo postico Leandro pelas conversas e conselhos dados.

A minha Professora Orientadora Rosete Pescador, exemplo de caráter, sendo muito mais que uma orientadora, uma amiga. Obrigado por poder desfrutar de seu conhecimento, sabedoria e, principalmente, de sua amizade.

Aos meus amigos Nathan, Felipe, Guilherme, Murilo, Geovan, Gilmar e Carlos Roberto pelos momentos de alegria que proporcionaram em minha vida.

As minhas catequistas Onélia e Maria (além de catequista, bisavó – *in memoriam*) pela entronização na vida cristã e compartilhamento da Palavra de Deus e seus ensinamentos.

Ao meu supervisor Professor Dr. Marcelo Augusto Gutierrez Carnelossi, pela qualificada orientação, sugestões, correções, esclarecimentos e apoio.

Aos colegas do Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Vegetal, Patrícia, Hyrla, Mônica, Julianna e Mateus pela harmoniosa companhia, amizade e ajuda, participando efetivamente na realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Marcelo Maraschin que me orientou desde a quarta fase do curso, contribuindo na minha formação tanto profissional quanto pessoal. Agradeço a Deus por ter colocado pessoa tão especial em meu caminho.

A professora Mônica Aparecida Aguiar dos Santos pela amizade, zelo e contribuição na organização da Semana Acadêmica da Agronomia.

Aos professores do Curso de Graduação em Agronomia.

As colegas de turma e amigas Luana e Daniela, exemplos de companheirismo e amizade.

A Juliana Quirino, por me hospedar em sua casa durante a realização do estágio.

Aos demais colegas de turma, pela convivência e compartilhamento de experiências.

A Direção do Centro de Ciências Agrárias por disponibilizar as passagens aéreas para a realização de meu estágio na Universidade Federal de Sergipe.

A Universidade Federal de Sergipe pela concessão do estágio.

A PRAE-UFSC por conceder o afastamento da Bolsa Permanência, possibilitando desta forma a realização de meu estágio.

A Universidade Federal de Santa Catarina por proporcionar tanto a formação técnica quanto humana.

A população brasileira, guerreira e lutadora, por tornar possível através do cumprimento de seus deveres a concretização de um sonho.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que eu alcançasse mais uma vitória em minha vida.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Adílio Manoel da Silva e Cátia Regina Martins e meus avós Manoel Jovelino da Silva e Joceni Abreu da Silva.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE TABELAS	V
RESUMO	VI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Material vegetal	3
2.1.1. Alface.....	3
2.1.2. Acelga.....	3
2.2. Processamento mínimo.....	3
2.3. Salada mista.....	5
2.4. Mercado	7
2.5. Respostas fisiológicas.....	8
2.5.1. Respiração	9
2.5.2. Síntese de etileno	10
2.5.3. Atividade enzimática	11
2.6. Atmosfera modificada ativa e passiva	12
3. JUSTIFICATIVA	15
4. OBJETIVOS	15
4.1. Objetivo Geral	15
4.2. Objetivos Específicos	15
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	16

5.1. Matéria-prima	16
5.2. Processamento mínimo.....	17
5.3. Análises realizadas.....	20
5.3.1. Quantificação de dióxido de carbono e taxa respiratória	20
5.3.2. Evolução de etileno	21
5.3.3. Atividade enzimática: polifenoloxidase (PPO)	21
5.3.4. Teor relativo de clorofila	22
5.3.5. Cor	22
5.3.6. Fenóis totais	23
5.4. Delineamento experimental e análise estatística dos dados	24
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6.1. Acúmulo de CO ₂ e taxa respiratória.....	24
6.2. Evolução de C ₂ H ₄	30
6.3. Atividade enzimática, cor instrumental e fenóis totais.....	32
6.3.1. Alface roxa.....	32
6.3.2. Acelga.....	35
6.3.3. Alface americana.....	38
6.4. Teor relativo de clorofila.....	43
6.5. Desordem fisiológica e aparecimento de odor.....	45
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Amostras de <i>L. sativa</i> var. <i>pira roxa</i> , <i>B. vulgaris</i> L. e <i>L. sativa</i> var. “ <i>Tainá</i> ” adquiridas no CEASA de Aracaju – SE de cultivares das alface roxa (A), acelga (B) e alface americana (C).....	16
Figura 2. Fluxograma de processamento mínimo de alface roxa, acelga e alface americana utilizadas na composição da salada mista minimamente processada (SOUZA, 2010).....	17
Figura 3. Detalhe do corte longitudinal (A) e transversal (B).....	18
Figura 4. Posição das hortaliças no interior da embalagem de nylon poli. Alface roxa (superior), acelga (intermediário) e alface americana (inferior).....	18
Figura 5. Detalhe da colocação das hortaliças no interior da embalagem de nylon poli. Alface roxa (superior), acelga (intermediário) e alface americana (inferior).....	19
Figura 6. Detalhe do septo e da retirada da alíquota amostral da atmosfera circundante do produto em embalagens de nylon poli.....	21
Figura 7. Sistema CIELAB (direita) L* (luminosidade (claro/escuro)); a* (cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+)); b* (cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+)) e ângulo Hue (esquerda), onde 0° indica coloração vermelho púrpura, 90° amarelo, 180° verde e 270° azul.....	23
Figura 8. Acúmulo de CO ₂ em embalagem de nylon poli a 5°C, durante 20 dias de salada mista minimamente processada. As barras representam o erro padrão da média.....	28
Figura 9. Taxa respiratória (mg.kg ⁻¹ .h ⁻¹) em embalagem de nylon poli a 5°C, durante 20 dias de salada mista minimamente processada. As barras representam o erro padrão da média.....	29
Figura 10. Índice de escurecimento (IE), atividade enzimática e fenóis totais em alface roxa como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.....	34
Figura 11. Parâmetro a* e Hue em alface roxa como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.	35

Figura 12. Índice de escurecimento (IE), atividade enzimática e fenóis totais em acelga como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade..... 37

Figura 13. Parâmetro a* e Hue em acelga como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade38

Figura 14. Índice de escurecimento (IE), atividade enzimática e fenóis totais em alface americana como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade..... 40

Figura 15. Parâmetro a* e Hue em alface americana como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.....41

Figura 16. Detalhe da coloração rósea-ferrugem em nervuras de alface americana..... 46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Teor relativo de clorofila (Índice SPAD) de alface roxa minimamente processada como componente de salada mista de acordo com o tratamento controle, G85 e G86.....	43
Tabela 2. Teor relativo de clorofila (Índice SPAD) de acelga minimamente processada como componente de salada mista de acordo com o tratamento controle, G85 e G86.....	43
Tabela 3. Teor relativo de clorofila (Índice SPAD) de alface americana minimamente processada como componente de salada mista de acordo com o tratamento controle, G85 e G86.....	44

RESUMO

Os alimentos minimamente processados lograram nos últimos tempos aumento no seu consumo, em virtude de uma sociedade cada vez mais rigorosa com relação à qualidade dos alimentos por ela consumidos. Adicionalmente, mudanças de hábitos da mesma tornam a aquisição deste tipo de produto cada vez mais evidente. Alguns percalços limitam a comercialização deste tipo de alimento, os quais estão relacionados a respostas fisiológicas em detrimento de etapas do processamento mínimo. Entre elas estão mudanças no pH, °BRIX, degradação de clorofila e compostos fenólicos, acúmulo de carotenóides, escurecimento enzimático e aumento da taxa respiratória, evolução de etileno, dentre outros. Diante disso, o objeto deste trabalho foi determinar as respostas fisiológicas de salada mista minimamente processada constituída por alface roxa, acelga e alface americana armazenada a temperaturas de $5 \pm 1^\circ\text{C}$, por 0, 5, 10, 15 e 20 dias em embalagens nylon poli submetida a atmosferas modificada passiva (controle) e ativa ($\text{G85} \rightarrow 2\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2 + 93\% \text{N}_2$; $\text{G86} \rightarrow 5\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2 + 90\% \text{N}_2$). As variáveis analisadas foram evolução de CO_2 , C_2H_4 , taxa respiratória, índice de escurecimento, a^* , b^* e ângulo Hue, atividade da polifenoloxidase, fenóis totais e teor relativo de clorofila. A quantificação de dióxido de carbono e evolução de etileno foi realizada utilizando-se um cromatógrafo a gás Young Lin YL6100 GC. Para quantificação de CO_2 , o cromatógrafo foi equipado com detector de condutividade térmica (TCD), coluna capilar Rt-QPLOT. Para a evolução de etileno, o cromatógrafo foi equipado com detector de ionização de chama (FID) e capilar de 30 metros Rt-QPLOT. A taxa respiratória foi calculada de acordo com Kays (1991). Os parâmetros colorimétricos foram obtidos com o auxílio de um colorímetro portátil digital (MINOLTA CR-400). O índice de escurecimento foi determinado de acordo com metodologia de Palou et al. (1999). A atividade da polifenoloxidase e fenóis totais foram determinados, respectivamente, de acordo com métodos descritos por Simões (2004) e Kubota (1995), ambos com adaptações. Os teores relativos de clorofila foram determinados utilizando-se um clorofilômetro Opti-Sciences CCM – 200, sendo os resultados expressos em Índice SPAD. Não houve evolução de etileno nas embalagens de nylon poli durante o período de armazenamento. Detectou-se atividade respiratória e, logo, acúmulo de CO_2 em todos os tratamentos, sendo que os menores valores se deram nas embalagens contendo a mistura de gases G85, onde nestas a partir do 5º dia de armazenamento se verificou estabilização da taxa respiratória. Não foi observada correlação significativa entre índice de escurecimento, atividade enzimática (PPO) e fenóis totais. Os dados de ângulo Hue para alface americana e acelga refletem os dados dos teores relativos de clorofila, não ocorrendo o mesmo comportamento para alface roxa. O teor relativo de clorofila se manteve constante do 1º ao 20º de armazenamento em todos os tratamentos em acelga e alface roxa minimamente processadas, sendo que a alface americana mostrou aumento nos teores relativos de clorofila. Foi observado surgimento de distúrbios por CO_2 em alface americana e odor a partir do 10º dia de armazenamento em todos os tratamentos. Os dados sugerem que a mistura de gases G85 é a mais adequada para o armazenamento da salada mista nas condições deste estudo.

1. INTRODUÇÃO

A agitação da cidade grande a cada dia consome mais e mais o tempo das pessoas que nela residem. Na maioria das vezes quem paga por esta falta de tempo é a nossa alimentação, onde sua base está praticamente no consumo de carboidratos e proteínas, i.e., no consumo de macarrões instantâneos e frituras, principalmente os famosos *nuggets* de frango, que se tornam uma tentação pela praticidade que proporcionam. Em vista deste cenário e das possíveis implicações que este tipo de alimentação pode causar na saúde das pessoas, manifestações quanto à necessidade de alimentos nutricionalmente balanceados e de qualidade são cada vez mais frequentes, o que exige a elaboração de novas tecnologias quanto ao processamento de alimentos que estejam prontamente à disposição e supram a exigência desses consumidores.

A busca de uma alimentação mais saudável, com o consumo de frutas e hortaliças frescas, aliada ao uso de novas técnicas na indústria de alimentos, permitiu uma demanda crescente de alimentos mais conveniente e frescos, que sejam menos processados e prontos para o consumo: os produtos minimamente processados (MATTIUZ et al., 2003).

Produto minimamente processado, segundo a *International Fresh-Cut Produce Association*, pode ser definido como qualquer fruta, hortaliça ou combinação destas que tenha sido fisicamente alterada, mas que permaneça no estado fresco. As hortaliças minimamente processadas são vegetais colhidos e submetidos a um processo industrial que envolve as atividades de seleção e classificação da matéria-prima, pré-lavagem, processamento (corte, fatiamento etc.), sanitização, enxágue, centrifugação e embalagem, visando obter um produto fresco, saudável e que, na maioria das vezes, não necessita de nenhum preparo adicional para ser consumido (SEBRAE, 2008). Para cada produto, no entanto, deve-se seguir um fluxograma previamente estudado, onde são determinadas as particularidades de cada etapa do processo (CARNELOSSI, 2005).

O consumo crescente de produtos minimamente processados é um fenômeno de âmbito mundial, associado com fatores decorrentes das profundas mudanças sociais, políticas e econômicas das últimas décadas, que impuseram novos hábitos, estilos e ritmos de vida à sociedade e à vida privada dos sujeitos (SEBRAE, 2008).

Mudanças importantes nos perfis sócios demográficos, atitudinais e de estilo de vida das populações são fatores que costumam ser associados à intensificação do consumo de hortaliças minimamente processadas (HMP) destacando-se: o aumento do

número de pessoas de maior faixa etária; a crescente participação da mulher no mercado de trabalho; o aumento da distância entre a moradia e o trabalho, sobretudo nas cidades de maior porte; a crescente busca por uma alimentação mais saudável; a valorização da praticidade e conveniência; o aumento do número de pessoas morando sozinhas; a crescente preferência por comidas prontas e por comidas frescas; o crescimento do mercado de *food service* (mercado institucional), entre outros (SEBRAE, 2008).

Um segmento dos produtos minimamente processados quem vem ganhando destaque nos últimos anos é o de salada mista. Segundo Heimler et al. (2007), a salada mista vem ganhando espaço no mercado por apresentar vantagens como a qualidade visual, sensorial e alto valor nutricional. As características apresentadas são resultantes da diversificação de cor, diferentes cortes e variedades de vegetais.

Entretanto, alguns percalços tecnológicos como o escurecimento enzimático de folhosas e tubérculos, o esbranquiçamento de algumas raízes, a inadequação de filmes de plástico ou mesmo de combinações de gases para o acondicionamento de frutas e hortaliças, a existência de agroindústrias operando sem o mínimo de condições higiênicas, o desconhecimento tanto por parte de processadores quanto de supermercadistas da importância da manutenção da cadeia do frio e o desenvolvimento de novos produtos e ferramentas de comercialização são desafios que ainda estão por ser vencidos pelos diversos atores envolvidos com a atividade de processamento mínimo de frutas e hortaliças no Brasil (MORETTI, 2007). Adicionalmente, há a necessidade de se determinar o tipo de embalagem e mistura gasosa para o prolongamento da vida útil deste tipo de alimento, i.e., salada mista de hortaliça minimamente processada. Diante disso, o presente trabalho visa dar subsídios a definição da melhor condição de armazenamento de salada mista minimamente processada constituída por alface roxa, acelga e alface americana.

O estágio de conclusão de curso foi realizado na Universidade Federal de Sergipe sob a supervisão do Professor Doutor Marcelo A. G. Carnelossi, no período de 31/01/2012 a 20/04/2012. Além de avaliar as respostas fisiológicas da salada mista minimamente processada composta por alface roxa, acelga e alface americana, durante o estágio pude desfrutar da vivência laboratorial e participar de trabalhos de mestrandos e doutorandos, bem como no de graduandos que possuem bolsa de iniciação científica. Por fim, o estágio me permitiu conhecer uma nova cultura, hábitos, costumes e visitar lugares de beleza ímpar num país tão rico e maravilhoso como o Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Material vegetal

2.1.1. Alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é originária da Europa e da Ásia e pertence à família Asteraceae, como a alcachofra, o almeirão e a chicória ou escarola (MELO et al., 2012). Conhecida como a rainha das saladas, a alface é uma planta herbácea, anual e muito delicada.

A alface constitui uma importante fonte de sais minerais, principalmente de cálcio e de vitaminas, especialmente a pró-vitamina A, cujo aproveitamento pelo organismo é favorecido por ser consumida crua. Juntamente com o tomate, é a hortaliça preferida para as saladas devido ao seu sabor agradável e refrescante e facilidade de preparo (CAETANO, 2001; FILGUEIRA 1982; MELO et al., 2012). Pode ser cultivada durante o ano todo, em todas as regiões do Brasil, a depender da cultivar escolhida, uma vez que existem variedades adaptadas a climas mais quentes e outras para plantio em regiões de clima ameno. As alfaces roxa e verde são consumidas predominantemente em saladas frescas. A alface americana é mais crocante e, além de seu uso em saladas, é indicada para o preparo de sanduíches por ser mais resistente ao calor (GODIN, 2010).

2.1.2. Acelga

A acelga (*Beta vulgaris* L.) é da mesma família da beterraba e se diferencia pelo grande desenvolvimento das folhas e do talo, que são as partes comestíveis. É rica em fibras e vitaminas A e C, além de ser fonte de sais minerais como cálcio e ferro. Pode ser consumida crua, em saladas, e refogada como a couve. É vendida em maços, e os caules podem ser consumidos fritos ou cozidos em sopas. (GODIN, 2010).

2.2. Processamento mínimo

A introdução dos alimentos minimamente processados no mercado se iniciou há 30 anos nos mercados estadunidense e francês. De lá para cá, em virtude de mudanças ocorridas na estrutura familiar e nos hábitos alimentares, especialmente na demanda por

alimentos saudáveis, como os livres de gorduras *trans*, com baixo teor, ou restrição, de gorduras e açúcares (alimentos *light* e *diet*), livres de radicais livres, sódio e de conservantes químicos, as empresas foram impulsionadas a buscar novas soluções para o processamento de alimentos que resultem em um produto que atenda essas características (CENCI, 2011).

Os alimentos minimamente processados são aqueles que, em virtude do pré-preparo proporcionado pela desinfecção e cortes diferenciados, oferecem comodidade ao consumidor, uma vez que dispensam essas etapas na vida doméstica e nos serviços institucionais. Sendo assim, o usuário reduz o tempo de preparo de alimentos, podendo reduzir custos (SOARES & FONSECA, 2008). A adoção da tecnologia de processamento mínimo de vegetais resulta em produtos de valor agregado pela conveniência, segurança e manutenção da qualidade sensorial e nutricional nas frutas e hortaliças (CENCI, 2011).

Alguns requisitos são primordiais para que o processamento mínimo seja eficaz, i.e., ambiente limpo e refrigerado e rapidez durante o processamento. Entretanto, o processamento mínimo ainda torna os produtos hortícolas mais perecíveis devido às operações de descascamento e corte. Daqui surge o primeiro problema de quando se tem por objetivo manter o frescor das frutas e hortaliças: trata-se de tecidos vivos. Estas, mesmo após a colheita continuam realizando inúmeras reações metabólicas para manter a integridade dos tecidos. Outro ponto importante deve-se ao de minimizar ao máximo o risco de contaminação microbiológica, uma vez que isso compromete a segurança do alimento (CENCI, 2011). Diante do exposto, nasce a necessidade de se realizar os processos de pré-lavagem, processamento (corte, fatiamento etc.), sanitização, enxágue, centrifugação e embalagem com maior eficiência possível para a preservação das propriedades organolépticas do produto em questão. Antes ainda do processamento mínimo propriamente dito, o essencial seria que durante a colheita já se fizesse uma limpeza das partes não aproveitáveis, com lavagem e pré-resfriamento, ainda no campo, sendo o transporte e outras operações como carga e descarga, assim como a recepção devem ser cuidadosamente realizadas, evitando-se choques bruscos e fortes (DURIGAN, 2004). Esses procedimentos, quando mal executados, ativam sistemas enzimáticos, proporcionam o acúmulo de metabólitos de baixo peso molecular, aumentam a taxa respiratória, estimulam a deterioração microbiana, entre outros. Adicionalmente, há o escurecimento enzimático, a descoloração da superfície, a senescência causada pelo etileno e a perda do valor nutricional, o que culmina na perda

de qualidade e na diminuição da vida útil dos produtos minimamente processados (CENCI, 2011).

2.3. Salada mista

O mercado de minimamente processados, em seus primórdios, mais precisamente em 1950, baseava suas atividades no comércio de folhosas embaladas individualmente. A alface era um dos principais ingredientes dos diferentes sanduíches consumidos e foi uma das primeiras hortaliças comercializadas na forma minimamente processada. Com o passar dos anos, mais precisamente na década de 1970, o mercado passou a exigir não somente saladas de diferentes tipos de alface, mas saladas de misturas variadas de hortaliças como cenoura, salsão, brócolis e alface, juntos numa mesma embalagem (MORETTI, 2007).

Apesar das hortaliças minimamente processadas serem vendidas principalmente na forma de “mix” de salada (20%) (PEREZ et al., 2008), no Brasil ainda é tímida a existência de saladas mistas. Nos EUA, a salada de alface com tiras de cenoura, considerada ainda uma novidade por aqui, já está ultrapassada. Em 2003, o crescimento do negócio de saladas minimamente processadas nos EUA foi ao redor de 9%, com vendas estimadas em 2,3 bilhões de dólares (MORETTI, 2007).

No Brasil, diversas são as hortaliças utilizadas na forma minimamente processadas, e, atualmente, misturas de hortaliças como saladas mistas vem se destacando na indústria. Variedades coloridas de couve (híbridos do cruzamento entre couve e repolho) são hortaliças que estão agregando valor às saladas mistas minimamente processadas. O consumo desse tipo de hortaliça teve aumento significativo durante a última década e está se tornando um valioso complemento de saladas mistas (KIM et al., 2004). As misturas de hortaliças, além de prontas para o consumo, disponibilizam qualidade, variedade visual pela disposição de cores e formas interessantes, sabores diferenciados e alto valor nutricional (HEIMLER et al., 2007). As saladas mistas apresentam-se como alternativa não só para o consumidor doméstico, mas também para o setor institucional, atendendo principalmente ao setor de *fast food* (DELLA COLLETA, 2009).

No entanto, esse tipo de produto apresenta problemas tecnológicos, como por exemplo, escurecimento devido à atividade metabólica, microbiota contaminante,

interações entre os produtos na mistura em relação ao sabor, cor e textura, especificidade de embalagens, uso de atmosfera modificada, controle de vácuo, entre outros (CARNELOSSI, 2011). O desenvolvimento de escurecimento em qualquer ingrediente de uma mistura de salada reduz a sua vida de prateleira (CASTAÑER et al., 1999). É importante salientar que, no preparo de saladas mistas, a qualidade em geral corresponde àquela do componente mais perecível. A idade fisiológica ou os danos físicos às folhas podem gerar produto com grau de perecibilidade desuniforme (CHITARRA & CHITARRA, 2007).

Outro fator relevante diz respeito ao tempo em que a salada está em condições de ser consumida. O período de vida útil de saladas mistas estabelecido pelos fabricantes é geralmente 7 - 14 dias, dependendo do tipo e da origem do material vegetal, e é determinada pela perda das qualidades organolépticas (GARCÍA-GIMENO & ZURERA-COSANO, 1997). Mesmo os fabricantes estipulando um intervalo de tempo em que o material vegetal estaria hábil para ser consumido, o mesmo ainda parece ser pouco exato, sendo que em tal período mudanças de ordem fisiológica poderiam ocorrer, onde o produto apresentar odor desagradável e propriedades organolépticas comprometidas. Adicionalmente, poucas são as misturas de hortaliças que possuem estudos relacionados aos eventos fisiológicos ocorridos durante o armazenamento. Alguns das misturas estudadas são a de batata e vagem (PILON, 2003); cenoura, repolho roxo e couve (DELLA COLLETA, 2009); alface roxa, acelga e alface americana (SOUZA, 2010; REINOSO, 2011; ARAÚJO et al., 2011) e; rúcula e alface americana (MATOS et al., 2011; ARAÚJO et al., 2011).

Os estudos referentes às misturas de hortaliças se restringem à qualidade microbiológica (GARCÍA-GIMENO & ZURERA-COSANO, 1997); teor de fenóis (MAYER-MIEBACH et al., 2003); atividade antioxidante (HEIMLER et al., 2007) e atmosfera modificada (PILON, 2003; SANTOS, 2007). Alguns trabalhos realizados nos últimos tempos, como o de Della Colleta (2009); Souza (2010) e; Reinoso (2011) estudaram outras respostas fisiológicas, como a evolução de CO_2 e C_2H_4 e a taxa respiratória das hortaliças quando armazenadas na forma de salada mista.

Diante disso, estudos outros se fazem necessários para a elucidação das respostas fisiológicas deste tipo de alimento. Somando-se a isto, pesquisas que compreendam outras misturas de saladas se mostram imprescindíveis para a padronização do produto em questão. Com a formação de um banco de dados que consiga estimar o comportamento das diferentes misturas de hortaliças, será possível

dar subsídios à criação de uma legislação que determinará os procedimentos adequados para com este tipo de alimento. Por fim, a criação de uma legislação culminará na padronização de termos técnicos e o uso nomenclatura inespecífica, o que muitas vezes causa transtornos quando se busca informações científicas sobre este tipo de alimento.

2.4. Mercado

No Brasil, o setor de minimamente processados ainda é tímido quando se trata de expansão dos mercados. A comercialização desses produtos está praticamente circunscrita a médios e grandes centros urbanos como São Paulo, Belo Horizonte, Brasília, Rio de Janeiro e a algumas capitais das regiões Nordeste e Sul. No Estado de São Paulo, onde 92% dos hipermercados comercializam esses produtos, verificou-se, em pesquisa realizada em 2001, que, do total de frutas e hortaliças consumidas nos lares, somente 2,9% são na forma minimamente processada. Os números também variam em função da classe econômica dos entrevistados. Aproximadamente 4% dos consumidores das faixas A e B afirmaram comprar alguma fruta ou hortaliça na forma minimamente processada. Tais números demonstram maior preferência pelos produtos por parte das classes de maior renda (MORETTI, 2007).

Silva (2008), realizando entrevistas em redes supermercadistas e no comércio varejista de São Paulo, verificou que os alimentos minimamente processados se mostram como um nicho de mercado interessante, principalmente nas feiras livres direcionadas ao público das classes A e B, pois quem vai as compras é a empregada doméstica que não tem preocupação com o preço do produto e opta pela praticidade. De acordo com a mesma autora, outros entraves, os quais estão ligados a logística desse tipo de produto e que são apontados frequentemente pelas empresas processadoras são: 1) abastecimento de matéria-prima: estabelecer produtores parceiros que garantam o fornecimento do produto com a qualidade necessária para o processamento. Algumas empresas produzem sua própria matéria-prima, outras estabelecem contratos com produtores para o fornecimento, outras são obrigadas em muitos casos em se abastecer nas Centrais de Abastecimento (CEASAS) para abastecer a linha de produção; 2) o maquinário utilizado é caro e o investimento inicial muito alto; 3) falta da estrutura da cadeia produtiva de hortícolas que gera desequilíbrio de oferta, oscilações de preço e variações na qualidade do produto; alto custo com mão-de-obra nas unidades

processadoras; conseguir que a cadeia de frio seja mantida até o consumidor final - esse é apontado como o grande gargalo, pois compromete a qualidade do produto e finalmente o mais importante; 3) a inexistência de legislação específica para o setor.

2.5. Respostas fisiológicas

Apesar dos avanços da pesquisa nesta área, no Brasil, de forma mais intensa a partir dos anos 90, muito há o que se elucidar referente aos aspectos fisiológicos e bioquímicos decorrentes do processamento mínimo de hortaliças. As etapas do processamento mínimo, tais como lavagem, sanitização, enxágue, centrifugação e corte causam injúrias, induzindo respostas fisiológicas e bioquímicas acentuadas, em relação àquelas observadas em produtos intactos, o que diminui a sua conservação pós-colheita (CARNELOSSI et al., 2002). O produto minimamente processado apresenta maior perecibilidade em comparação ao produto intacto e, portanto, é extremamente importante que novos estudos sejam conduzidos enfocando compostos de importância funcional, bem como alterações que ocorrem na fisiologia desses produtos (MORETTI, 2007).

Em hortaliças vários são os efeitos do processamento mínimo. Dentre os efeitos bioquímicos e fisiológicos estimulados pelo processamento mínimo, destacam-se o aumento da taxa respiratória e a síntese de etileno (WATADA et al., 1990; ABELES et al., 1992; BRECHT, 1995), aumento da atividade de algumas enzimas do metabolismo vegetal, tais como, catalase, peroxidase e polifenoloxidase (SIMÕES et al., 2007; ROLLE & CHISM, 1987; BOLIN e HUXSOLL, 1991; AVENA-BUTYLLOS et al. 1993), alterações na composição química de compostos como vitamina C (KLEIN, 1987; CARNELOSSI, 2000), acúmulo de metabólitos secundários (LAMIKANRA, 2002) presença e atividade de micro-organismos deterioradores, que podem crescer durante a estocagem sob refrigeração e causar doenças de origem alimentar (NGUYEN-THE & CARLIN, 1994), entre outros.

2.5.1. Respiração

Após a colheita de qualquer parte do vegetal, a respiração torna-se o principal processo fisiológico, uma vez que não depende mais da absorção de água e minerais efetuados pelas raízes, da condução de nutrientes pelo sistema vascular, nem da atividade fotossintetizantes das folhas da planta-mãe (CHITARRA & CHITARRA, 2005). A energia química liberada pela respiração é captada para dar continuidade aos processos de síntese necessários à sua sobrevivência, notadamente no que se refere à organização celular, à permeabilidade das membranas e ao transporte de metabólitos para os tecidos. Dessa forma, as células continuam a produção de enzimas e de outras substâncias de estrutura molecular elaborada, como parte essencial do processo de manutenção de suas funções vitais (CHITARRA & CHITARRA, 2005). De acordo com a intensidade das reações bioquímicas, os tecidos podem atingir rapidamente a senescência, tornando-se mais suscetíveis à perda de umidade e ao desenvolvimento de micro-organismos. Portanto, o controle da respiração é condição essencial para a manutenção da qualidade e para o prolongamento da vida útil dos produtos vegetais perecíveis (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Uma das respostas fisiológicas é a diminuição das reservas energéticas e da vida útil devido à perda de substratos nos produtos vegetais. Esse fato é especialmente crítico em produtos como folhas, flores e outras estruturas que não funcionam como sítios de armazenamento de carbono. A perda de carbono e de água reflete-se na perda de massa, reduzindo o valor de comercialização do produto. A taxa de respiração pode ser utilizada para a previsão de perda de massa dos produtos armazenados (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Em estudo realizado com o intuito de verificar a evolução de CO₂ em cenoura, repolho roxo e couve minimamente processados isolados e em combinação, em dois momentos de colheita (novembro e janeiro) e em embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD) num período de 10 dias, Della Colleta (2009) constatou que a concentração de CO₂ tendeu a aumentar até próximo ao quarto dia, seguida de queda em todas as hortaliças embaladas individualmente ou em forma de mistura nas duas épocas de colheita. Em novembro, obtiveram-se concentrações mais elevadas de CO₂ em relação a janeiro, atingindo seu máximo mais rapidamente.

Carnelossi et al. (2005) com a finalidade de verificar, entre outros, a influência do processamento mínimo e do horário de colheita sobre a taxa respiratória de folhas de

couve intactas e minimamente processadas observaram que o fatiamento aumentou a taxa respiratória da folha em aproximadamente duas vezes em relação as folhas intactas. Quanto ao horário de colheita, a taxa respiratória das folhas colhidas às 14 horas e minimamente processadas logo após a colheita foi cerca de duas vezes maior do que daquelas colhidas às 7 horas.

2.5.2. Síntese de etileno

O etileno é um dos principais fatores endógenos que estimulam a atividade respiratória e, como consequência, antecipa o amadurecimento dos tecidos (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Uma grande variedade de tecidos reprodutivos e vegetativos apresenta elevação de atividade respiratória em resposta ao etileno, sendo o aumento dependente da presença contínua desse elemento nos tecidos. O seu efeito é de interesse considerável na pós-colheita, porque o acúmulo pode alterar a taxa respiratória, mesmo em produtos que o sintetizem em pequenas concentrações, promovendo uma grande variedade de respostas fisiológicas (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

O etileno também afeta negativamente a coloração verde dos tecidos vegetais, por induzir um aumento da atividade das clorofilases, enzimas que degradam a clorofila, com produção de compostos verde olivo ou marrons, ou ainda possibilitando o aparecimento de pigmentos carotenóides (amarelos) preexistentes nos tecidos (SARANTÓPOULOS et al., 2001).

Dentre outros fatores, a produção de etileno nos tecidos vegetais parece ser um dos motivos que diminuem o tempo de vida útil dos alimentos minimamente processados. O etileno (C_2H_4), por ser um hormônio vegetal natural, desempenha papel central na iniciação do amadurecimento e é fisiologicamente ativo em quantidades vestigiais de (0,1 ppm). A síntese de etileno tem como precursor a metionina. As etapas limitantes da rota são a conversão da adenosilmetionina (AdoMet) em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), a qual é catalisada pela enzima ACC sintase e; a conversão do ACC em etileno, a qual necessita de oxigênio e é catalisada pela enzima ACC oxidase. A síntese de etileno é estimulada por vários fatores, incluindo o estágio de desenvolvimento, condições ambientais, outros hormônios vegetais e lesões físicas e químicas. Em todos os casos, o etileno é produzido por uma via biossintética

comum e o aumento de sua produção é o resultado, pelo menos em parte, de um aumento na transcrição do RNA mensageiro da ACC sintase (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A produção de etileno nos tecidos vegetais é reduzida para abaixo da metade quando os níveis de O_2 estão em torno de 2,5%. Essa baixa concentração de oxigênio retarda a produção de etileno, reduzindo desta forma sua ação e, conseqüentemente, o amadurecimento do órgão vegetal (KENDRA, 2010). Em adição, o CO_2 em altas concentrações (5-10%) também inibe muitos efeitos do etileno, como a indução ao amadurecimento de frutos (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Della Colleta (2009), em estudo realizado com o intuito de verificar a evolução de C_2H_4 em cenoura, repolho roxo e couve minimamente processados isolados e em combinação, em dois momentos de colheita (novembro e janeiro) e em embalagem de polietileno de alta densidade (PEAD) num período de 10 dias, observou aumento na concentração deste hormônio logo nos dois primeiros dias de conservação, atingindo, no segundo dia, valor máximo em todos os produtos conservados, isoladamente e na forma de mistura, nas hortaliças colhidas em novembro. Em janeiro foi verificado um comportamento diferente, onde couve e salada mista atingiram valores máximos no primeiro dia, cenoura no segundo dia e repolho roxo no terceiro dia. No decorrer do armazenamento, o aumento transiente na concentração de C_2H_4 reduziu-se, apresentando estabilização ao final. Comparativamente a novembro, a produção de etileno em janeiro foi de 2 a 3 vezes maior nas embalagens contendo cenoura, repolho roxo, couve e salada mista. Os dados corroboram a inibição na síntese de C_2H_4 sob elevadas concentrações de CO_2 , as quais se verificaram em novembro.

2.5.3. Atividade enzimática

A manutenção da cor nos vegetais minimamente processados representa aspecto crítico em razão da maioria deles ser susceptível ao escurecimento enzimático (SILVA et al., 2009). Quando a maioria das frutas e vegetais é cortada ou triturada, rapidamente tornam-se escuro. Uma das enzimas envolvidas no escurecimento de frutas e hortaliças é a polifenoloxidase (PPO) (SOUZA & NEVES, 2006). A reação catalisada pela PPO consiste na hidroxilação de monofenóis a ortodifenóis e a oxidação de ortodifenóis a ortoquinonas. As ortoquinonas são compostos altamente reativos, cuja polimerização ocorre de forma não enzimática, promovendo a formação de pigmentos marrons, negros

ou vermelhos, conhecidos como melaninas (SOARES & FONSECA, 2008). Adicionalmente, à PPO tem sido atribuído um grande número de processos celulares, que inclui defesa contra pragas e patógenos, controle de níveis de oxigênio no cloroplasto, síntese de compostos fenólicos e cicatrização de danos (MAYER, 1987). Carnellosi et al. (2005) analisando a influência do horário de colheita, do resfriamento rápido e da temperatura de sanitização sobre a conservação de folhas de couve minimamente processadas verificaram que após 10 dias de armazenamento do material colhido às 7 horas e processado logo após a colheita, a atividade de PPO foi significativamente menor do que naquelas que foram colhidas durante a tarde. Quando o produto foi rapidamente resfriado, antes do processamento, a atividade de PPO na couve armazenado foi constante até o 10º dia de armazenamento, tanto naqueles provenientes da colheita às 7 horas, como às 14 horas. Após 10 dias de armazenamento, os produtos colhidos às 14 horas apresentaram maior atividade de PPO.

2.6. Atmosfera modificada ativa e passiva

A vida útil da maioria dos alimentos (carne, peixes, frutas e hortaliças, produtos de panificação, etc.) é muito limitada em presença de ar; isso se deve ao oxigênio atmosférico, já que, em sua presença, proliferam-se rapidamente os micro-organismos aeróbios, produzem-se reações químicas oxigênio-dependentes e avançam velozmente os fenômenos respiratórios em frutas e hortaliças. As preferências crescentes dos consumidores pelos alimentos com aparência *natural*, *frescos* ou minimamente processados, unidas ao grande avanço experimentado pelos materiais poliméricos, tiveram forte influência no desenvolvimento de tecnologias de atmosferas modificadas nas duas últimas décadas, que possibilitaram a oferta de bom número de alimentos a varejo (ORDÓÑEZ, 2005).

A modificação da atmosfera da embalagem plástica que acondiciona um produto que respira pode ser obtida passivamente, apenas pelo fechamento hermético da embalagem, ou por meio de uma evacuação parcial ou total. Também pode ser obtida ativamente, pela injeção de uma mistura gasosa específica na embalagem. A modificação passiva ou ativa da atmosfera na embalagem visa criar uma atmosfera ao redor do produto que minimize a atividade fisiológica do vegetal, sem lhes causar danos (SARANTÓPOULOS, 2011).

A atmosfera modificada passiva é formada a partir da respiração do produto, que consome O_2 na embalagem fechada e libera CO_2 . O próprio polímero da embalagem restringe as trocas gasosas entre os ambientes interior e exterior devido a sua permeabilidade seletiva ao O_2 e ao CO_2 . Após um tempo, o sistema alcança uma atmosfera modificada de equilíbrio com concentrações de O_2 menores e de CO_2 maiores do que no ar atmosférico (PINELI et al., 2005).

A atmosfera modificada ativa é obtida através da reposição da atmosfera no interior da embalagem por misturas gasosas em concentração pré-estabelecida. Promove-se o vácuo moderado na embalagem que contém produto e injeta-se a mistura de gases desejada antes da selagem da mesma (CHITARRA, 1998) acelerando, desta forma, o alcance da atmosfera de equilíbrio no interior da embalagem. A aceleração do equilíbrio atmosférico em embalagens sob vácuo parcial ocorre pelo processo de retirada de ar antes da selagem, diminuindo, o espaço livre (ZAGORY, 2000). Geralmente o efeito do aumento na vida útil de alimentos submetidos à atmosfera modificada ativa está associado à refrigeração, onde há substancial redução no crescimento microbiano e mudanças químicas e fisiológicas podem ser retardadas (PIROVANI et al., 1998).

O acondicionamento de produtos minimamente processados em atmosfera modificada apresenta como princípio básico a redução da concentração de O_2 e o acréscimo da concentração de CO_2 , buscando-se a desaceleração da atividade respiratória e, com esta, a redução do metabolismo e o controle do crescimento microbiano (SANTOS et al., 2005).

Quando a atmosfera é modificada pouco antes do fechamento da embalagem, por meio da injeção de uma mistura gasosa adequada (modificação ativa da atmosfera), uma atmosfera modificada é atingida imediatamente e pode manter-se estável dependendo da compatibilidade entre a taxa de respiração do produto e a taxa de permeabilidade a gases da embalagem. Quando a taxa de permeabilidade aos gases da respiração estiver compatibilizada com a taxa de respiração do produto na atmosfera injetada, esta atmosfera será igual à de equilíbrio durante a estocagem, caso não haja flutuações de temperatura e/ou crescimento microbiológico no produto. A vantagem desse sistema é que a atmosfera de equilíbrio é atingida mais rapidamente, o que mantém a qualidade inicial do produto por mais tempo (SARANTÓPOULOS, 2011). Existem fatores que podem interferir na atmosfera que é colocada na embalagem de produtos minimamente processados. Uma delas é a formação de um gradiente de

concentração entre os tecidos vegetais e a atmosfera circundante. Isto se dá, pois há a movimentação de gases (O_2 , CO_2 e C_2H_4) produzidos nos tecidos vegetais, os quais, por difusão, são translocados para a atmosfera injetada no produto, mudando sua composição (KENDRA, 2010).

Testaram-se vários gases para comprovar a capacidade de ampliar a vida útil dos alimentos perecíveis, mas as atmosferas mais utilizadas contêm proporções diversas de dióxido de carbono e de oxigênio, que são suplementadas, quando necessário, com nitrogênio como gás de equilíbrio (ORDÓÑEZ, 2005). Gases nobres ou "inertes", tais como o argônio, estão em uso comercial para produtos tais como café e lanches; no entanto, a literatura sobre sua aplicação e benefícios é limitada. O uso experimental de monóxido de carbono (CO) e dióxido de enxofre (SO_2) também tem sido relatado (KENDRA, 2010).

No entanto, parece haver um limiar entre a concentração de CO_2 e O_2 que mantém a atmosfera em equilíbrio, porém que não desencadeia a respiração anaeróbia e, conseqüentemente, a formação de compostos que interfiram no sabor da salada. A diminuição da concentração de O_2 e a elevação de CO_2 exercem efeitos independentes e, em muitos casos, sinérgicos sobre a respiração e sobre os outros processos metabólicos. Quando o tecido vegetal é armazenado em conteúdo de CO_2 muito elevado, a taxa de respiração diminui e os tecidos vegetais climatérios tornam-se menos sensíveis ao etileno. No entanto, como o CO_2 tem alguns efeitos citotóxicos, seu conteúdo em atmosferas de armazenamento deve ser controlado e não deve ser acima do limite crítico. A taxa de respiração dos tecidos vegetais também pode ser reduzida quando a concentração de O_2 no interior da embalagem é reduzida, mas a anóxia, ou seja, a ausência de oxigênio pode ser muito danosa em produtos frescos (CENCI, 2011). A atmosfera ideal para alguns produtos já é conhecida como cenoura (2 – 5% O_2 e 15 – 20% CO_2) e cebola (2 – 5% O_2 e 10 – 15% CO_2) (GORNÝ, 2001). Por outro lado, Pineli et al. (2005) observaram para batatas “Ágata” que o armazenamento sob vácuo parcial foi mais eficaz do que o uso de atmosfera modificada ativa no controle do escurecimento, da minimização da atividade da polifenoloxidase e da peroxidase, prevenindo alterações nos teores de sólidos solúveis totais, redução da firmeza, encharcamento da embalagem e maior acidez titulável.

Todavia, pesquisas relacionadas à definição de atmosferas mais apropriadas para a conservação de saladas mistas minimamente processadas são quase que inexistentes. Em virtude disso e do aumento de mercado de hortaliças vendidas na forma de “mix”,

estudos que verifiquem as concentrações ideais de gases para a formação de uma atmosfera modificada ativa para o armazenamento de saladas mistas minimamente processadas se tornam necessários para que haja o aumento de sua vida útil. Vale lembrar, que a cada produto corresponderá uma determinada atmosfera de acondicionamento específica e adequada ao mesmo e, dependente da temperatura e do período de estocagem (DAREZZO, 2000 *apud* NUNES et al., 2009).

3. JUSTIFICATIVA

Tendo vista o aumento do mercado, o consumo de hortaliças minimamente processadas, exigências do consumidor com relação a manutenção das propriedades organolépticas, nutricionais e segurança alimentar e a carência de informações referentes as respostas fisiológicas de saladas mistas minimamente processadas, o presente trabalho se mostra justificável na geração de protocolos de armazenagem mais apropriados.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Determinar as respostas fisiológicas de salada mista minimamente processada contendo alface roxa, acelga e alface americana frente às técnicas de atmosfera modificada e refrigeração.

4.2. Objetivos específicos

- Verificar os teores relativos de clorofila e fenóis, bem como a variação na cor das hortaliças durante o período de armazenamento;
- Acompanhar a atividade da enzima polifenoloxidase durante o armazenamento;
- Acompanhar o acúmulo de CO₂ (dióxido de carbono) e evolução de C₂H₄ (etileno) nas embalagens de nylon poli, bem como determinar a taxa respiratória da salada mista constituída por alface roxa, acelga e alface americana;

- Determinar a mistura de gases mais eficaz na conservação da salada constituída por alface roxa, acelga e alface americana;
- Determinar a vida útil da salada mista, considerando suas respostas fisiológicas.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Matéria-prima

As hortaliças utilizadas para o desenvolvimento do presente trabalho foram cultivadas no sistema convencional. As mesmas foram adquiridas na maturidade hortícola no CEASA de Aracaju/SE e, segundo informação verbal, suas colheitas foram feitas no dia anterior a aquisição. Posteriormente, as hortaliças foram transportadas ao Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Vegetal do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Sergipe (LPPOV/DTA/UFS). Antes de serem processadas, as hortaliças foram pré-resfriadas a temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$ em expositor vertical por 1 hora para retirada do calor do campo.

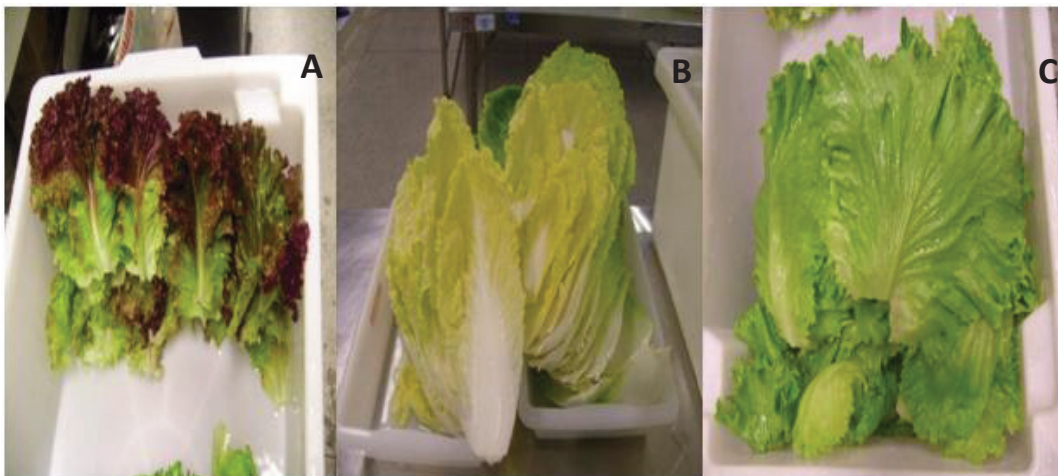


Figura 1. Amostras de *L. sativa* var. *pira roxa*, *B. vulgaris* L. e *L. sativa* var. “Tainá” adquiridas na Central Estadual de Abastecimento de Aracaju – SE das cultivares alface roxa (A), acelga (B) e alface americana (C).

5.2. Processamento mínimo

O processamento mínimo foi realizado de acordo com o fluxograma desenvolvido por Souza (2010), o qual é apresentado na Figura 2.

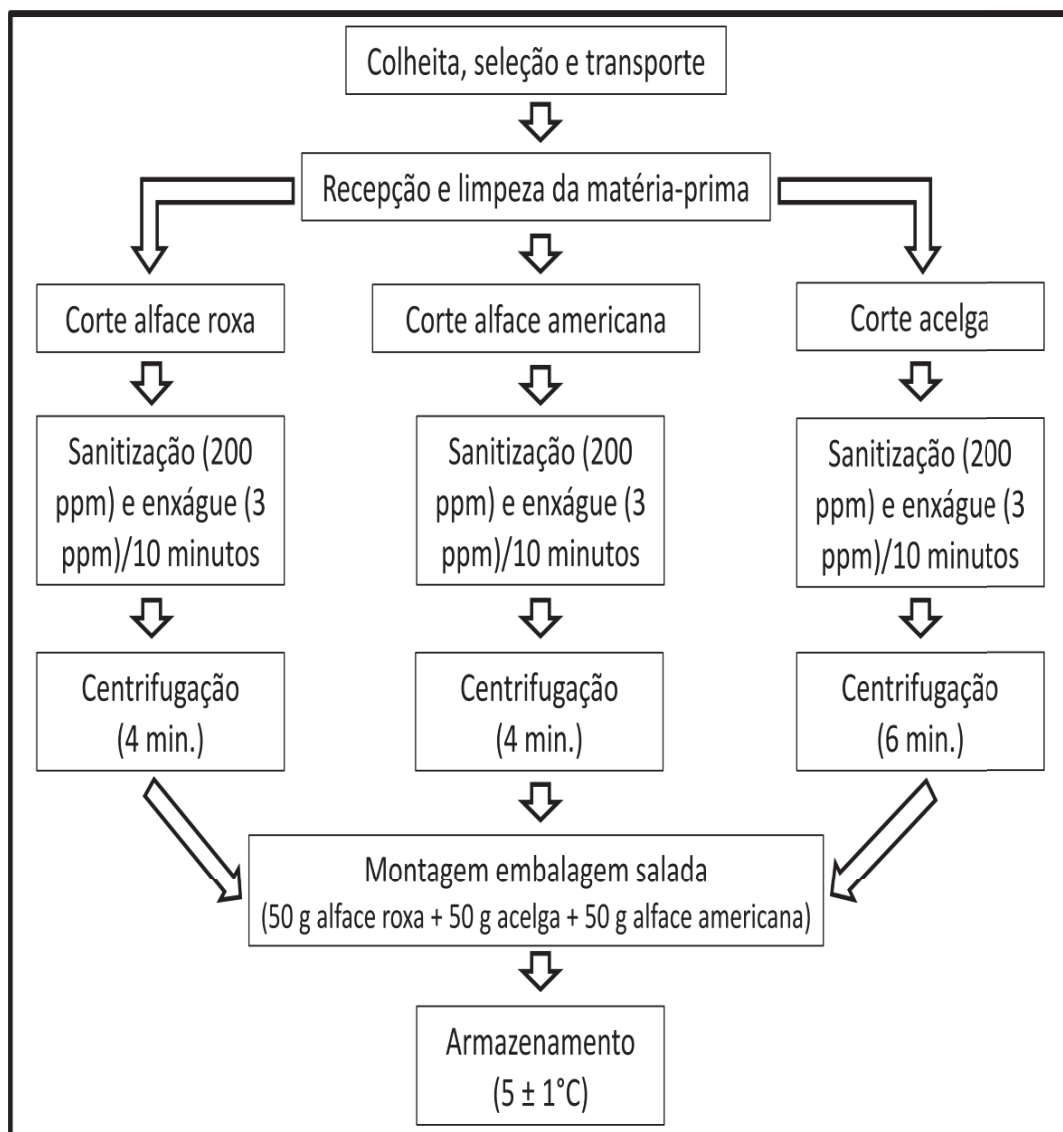


Figura 2. Fluxograma de processamento mínimo de alface roxa, acelga e alface americana utilizadas na composição da salada mista minimamente processada (SOUZA, 2010).

Após o pré-resfriamento, realizou-se a seleção das hortaliças, removendo-se folhas amareladas, murchas e danificadas e as amostras de interesse foram lavadas com água corrente. Realizadas a seleção e a limpeza, procedeu-se ao processamento

individual de cada hortaliça respeitando-se a seguinte ordem: alface americana, acelga e alface roxa.

O corte das hortaliças foi realizado com auxílio de uma faca, sendo estes no sentido longitudinal e transversal às folhosas (Figura 3 – A e 3 – B).

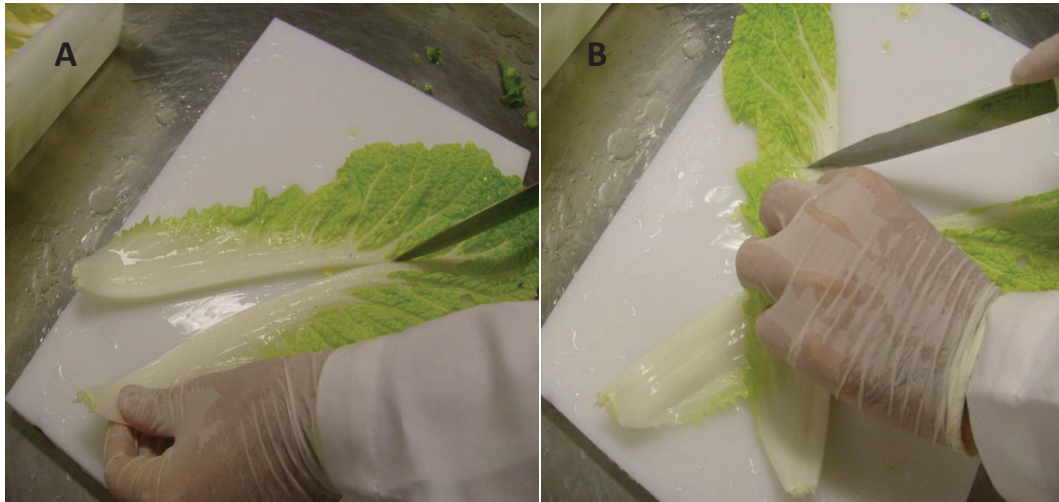


Figura 3. Detalhe do corte longitudinal (A) e transversal (B).



Figura 4. Detalhe do aspecto das folhosas após os cortes. Alface americana (esquerda), acelga (centro) e alface roxa (direita).

A sanitização e o enxágue foram realizados com o uso de cloro ativo em concentrações de 200 ppm e 3 ppm, respectivamente, sendo o tempo de cada um destes procedimentos de 10 minutos.

A centrifugação foi realizada em centrífuga industrial Turbo Kin, modelo A-2052 com velocidade de rotação de 3.100 rpm. Os tempos de centrifugação adotados para cada hortaliça foram os mesmos estabelecidos por Souza (2010), sendo que para alface roxa e alface americana foi de 4 minutos e acelga de 6 minutos.

O acondicionamento das hortaliças foi realizado em embalagens de nylon poli 5 camadas (espessura de 80 μm ; permeabilidade a O_2 de $0,6 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{atm}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$; permeabilidade a CO_2 de $4,0 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{atm}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ e; permeabilidade a vapor d'água de $5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$), sendo esta definida por Souza (2010) como a melhor embalagem para a conservação das folhosas constituintes desta salada mista. Para a composição da salada mista foi respeitada uma proporção de 1:1:1 de cada hortaliça, ou seja, 50 g de alface roxa, 50 g de acelga e 50 g de alface americana.



Figura 5. Posição das hortaliças no interior da embalagem de nylon poli. Alface roxa (superior), acelga (intermediário) e alface americana (inferior).

As embalagens contendo a mistura de hortaliças foram seladas utilizando-se uma seladora TECMAQ AP 500 com injeção de gases. Para os tratamentos com atmosfera

modificada ativa foram utilizadas misturas gasosas contendo 2% O₂ + 5% CO₂ + 93% de N₂ (G85) e 5% O₂ + 5% CO₂ + 90% de N₂ (G86) (Linha Conservare White Martins). Nestes tratamentos, durante a selagem das embalagens, foi realizado um vácuo parcial seguido de uma injeção de gás. Para o controle, as embalagens foram termoseladas sem vácuo parcial e adição de gases. As amostras embaladas foram armazenadas em expositor vertical a temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $60 \pm 5\%$ por 0, 5, 10, 15, 20 dias.

5.3. Análises realizadas

5.3.1. Quantificação de dióxido de carbono e taxa respiratória

A quantificação de dióxido de carbono foi realizada utilizando-se um cromatógrafo a gás Young Lin YL6100 GC, equipado com detector de condutividade térmica (TCD), coluna capilar Rt-QPLOT. O gás de arraste foi o nitrogênio, com fluxo de 4,0 ml.min⁻¹ e corrente elétrica de 85 mA, sendo, respectivamente, as temperaturas da coluna, do injetor e do detector de 30, 30 e 200°C. A quantificação foi feita por comparação das áreas dos picos produzidos pelas amostras com áreas dos picos produzidos pela injeção de alíquotas-padrão de concentração conhecida. A taxa respiratória (TR) foi calculada de acordo com Kays (1991), onde: $TR = (\Delta\%CO_2 \cdot 10) \cdot (\text{volume livre da embalagem (l)}) / (\text{peso do produto (kg)}) \cdot (\text{tempo que a embalagem permaneceu fechada (h)})$. O resultado foi expresso em ml.kg⁻¹.h⁻¹. Para conversão de ml.kg⁻¹.h⁻¹ para mg.kg⁻¹.h⁻¹, com a finalidade de remover o efeito da temperatura e possibilitar comparações diretas foi utilizada a seguinte equação: $518/1000 = \text{valor verificado na amostra}/x$, onde 518/1000 corresponde a quantidade em ml de CO₂ em 1000 mg de produto. O resultado final foi expresso em mg.kg⁻¹.h⁻¹. Para a injeção das amostras no cromatógrafo, foi colocado um septo nas embalagens de nylon poli para a retirada da alíquota da atmosfera circundante do produto, onde, para tal, foi utilizada uma seringa de insulina.



Figura 6. Detalhe do septo (A) e da retirada da alíquota amostral da atmosfera circundante do produto (B) em embalagens de nylon poli.

5.3.2. Evolução de etileno

A análise do acúmulo de etileno foi realizada utilizando-se um cromatógrafo a gás Young Lin YL6100 GC, equipado com detector de ionização de chama (FID) e capilar de 30 metros Rt-QPLOT. O gás de arraste foi o nitrogênio, com fluxo de $5,6 \text{ ml.min}^{-1}$ e os fluxos de hidrogênio e do ar mantidos a 30 e 300 ml.m^{-1} , respectivamente. As temperaturas da coluna, do injetor e detector foram de 80, 110 e 250°C , respectivamente. Para a injeção das amostras no cromatógrafo, foi colocado um septo nas embalagens de nylon poli para a retirada da alíquota da atmosfera circundante do produto, onde, para tal, foi utilizada uma seringa de insulina. A quantificação de etileno foi realizada pela comparação das áreas dos picos das amostras com áreas dos picos produzidos pela injeção de alíquotas-padrão de concentração conhecida. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l.l}^{-1} \text{ C}_2\text{H}_4$.

5.3.3. Atividade enzimática: polifenoloxidase (PPO)

A atividade da polifenoloxidase foi determinada de acordo com método descrito por Simões (2004), com adaptações. Para tal, 2,0 g de cada hortaliça, tomados aleatoriamente, foram homogeneizados em 6 ml de tampão fosfato (0,2M) em pH 6,0

com auxílio de almofariz em banho gelo (4°C). O homogenato foi centrifugado a 10.000 x g por 21 minutos a 4°C em centrífuga refrigerada Eppendorf 5804R. Após a centrifugação, os tubos contendo o sobrenadante (extrato enzimático) foram mantidos em banho de gelo. Como substrato, tubos foram preparados com 1,5 ml de uma solução de catecol (0,2M) e 1,3 ml de tampão fosfato (0,2M), permanecendo estes a 25°C até estabilização da temperatura. A esses tubos foram adicionados 100 µl do extrato enzimático, sendo o conteúdo de cada tubo homogeneizado e transferido imediatamente a cubetas de quartzo para leitura em espectrofotômetro Biospectro SP – 220. A atividade da PPO foi determinada pelo aumento da absorbância a 425 nm a 25°C, sendo as leituras feitas a cada 30 segundos, totalizando um tempo 2 minutos. A atividade foi expressa em unidades de PPO.g⁻¹ MF, onde uma unidade enzimática de PPO foi definida como a quantidade de enzima capaz de aumentar a absorbância em 0,001.

5.3.4. Teor relativo de clorofila

Os teores relativos de clorofila foram determinados utilizando-se um clorofilômetro Opti-Sciences CCM – 200. Os resultados foram expressos em Índice SPAD.

5.3.5. Cor

A avaliação instrumental da cor foi realizada por meio de colorímetro portátil digital (MINOLTA CR-400), obtendo-se os valores de L (luminosidade (claro/escuro)); a* (cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+)); b* (cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+)). A aquisição dos dados foi realizada diretamente sobre a superfície adaxial das folhas das hortaliças. De posse desses valores, foi calculado o índice de escurecimento (IE) de acordo com metodologia de Palou et al. (1999), sendo o $IE = [100.(x - 0,31).0,172]$, em que, $x = (a + 1,75.L).(5,645.L + a - 3,012.b)$. Outro valor obtido através do colorímetro foi o ângulo Hue ($h = \tan^{-1}(b^*/a^*).2$), onde 0° indica coloração vermelho púrpura, 90° amarelo, 180° verde e 270° azul (HOLCROFT & KADER, 1999). De acordo com os valores do ângulo Hue é possível visualizar tendências de degradação de clorofila e surgimento de pigmentos carotenoides.

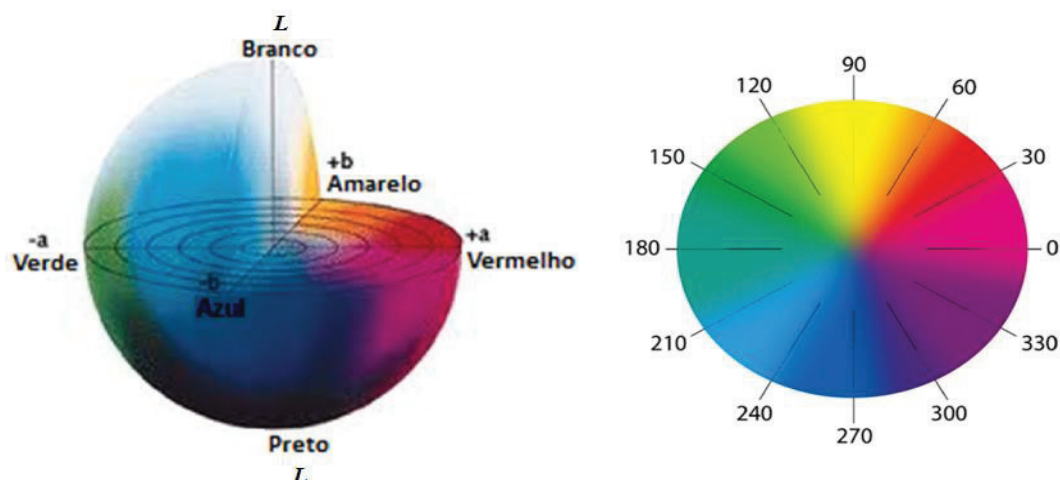


Figura 7. Sistema CIELAB (esquerda) L^* (luminosidade (claro/escuro)); a^* (cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+)); b^* (cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+)) e ângulo Hue (direita), onde 0° indica coloração vermelho púrpura, 90° amarelo, 180° verde e 270° azul.

Fonte: Manual do Usuário Minolta CR-400.

5.3.6. Fenóis totais

Os fenóis totais foram determinados de acordo com a metodologia de KUBOTA (1995), com adaptações. Amostras (2,5 g) do material vegetal, tomadas aleatoriamente, foram maceradas e homogeneizadas em 15 ml de água destilada e, em seguida, filtradas em gaze em balão de 25 ml. Para a realização da reação, foi adicionado em tubos de ensaio 4,5 ml de água destilada, 0,5 ml do extrato e 2,5 ml de solução de Folin Ciocalteau 1N (20%). Após a adição deste reagente, o conteúdo dos tubos foi homogeneizado em vortex por aproximadamente 10 segundos. Antes que se completasse 8 minutos da adição do reagente de Folin Ciocalteau, foram adicionados 2 ml de uma solução de carbonato de sódio (10%) a reação. O conteúdo dos tubos foi novamente homogeneizado em vortex por 10 segundos e estes foram colocados em banho termostático Julabo F34 por 1 hora a 30°C . Logo depois, os tubos foram transferidos para banho de gelo por aproximadamente 1 hora para paralisação da reação. As leituras da concentração dos fenóis solúveis totais foram feitas em espectrofotômetro Biospectro SP - 220 a 700 nm. A determinação dos teores de fenóis foi realizada através de uma curva externa de D-catequina com concentração variando de 0 a $100\ \mu\text{g}$

($y = 0,002x + 0,054$, $r^2 = 0,96$). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g D-catequina.g}^{-1}$ MF.

5.4. Delineamento experimental e análise estatística dos dados

O experimento constou de delineamento inteiramente casualizado seguindo esquema fatorial 3x5, sendo 3 tratamentos (atmosfera modificada ativa (2) e passiva (controle)) e 5 tempos de armazenamento (0,5,10, 15 e 20 dias), com 3 repetições. Os dados foram analisados com o auxílio do programa *ASSISTAT 7.6 Beta* por meio de análise de variância (*ANOVA*) e as médias comparadas utilizando-se o teste Scott-Knott, adotando-se o nível de 5% de probabilidade de erro. Os gráficos foram feitos com auxílio do Microsoft Excel 2007.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Acúmulo de CO₂ e taxa respiratória

No período de armazenamento foi observada baixa atividade respiratória celular nas amostras independente dos tratamentos, sendo visualizadas diferenças significativas entre os mesmos pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) tanto entre as misturas de gases testadas quanto entre os dias de avaliação. Todos os tratamentos expressaram aumento exponencial da porcentagem de CO₂ nas embalagens do 1º ao 5º dia de armazenamento (Figura 8). Porém, as embalagens contendo gás G85 foram as primeiras a estabilizarem a atividade respiratória, ou seja, no 5º dia de experimento, mantendo tal comportamento até o 20º dia de armazenamento (Figura 8). A embalagem contendo gás G86 apresentou estabilização da produção de CO₂ no 10º dia de armazenamento, mantendo-se constante até o 15º dia, diminuindo-se a porcentagem daquele gás depois desta avaliação (Figura 8). O tratamento respectivo ao controle também apresentou aumento significativo na porcentagem de CO₂ até o 10º dia de armazenamento, sendo que após o 15º dia, houve decréscimo na porcentagem de dióxido de carbono nas embalagens de nylon poli, ou seja, 7,33% no 15º dia para 5,00% no 20º dia de armazenamento (Figura 8).

O aumento exponencial da respiração celular das amostras no início do armazenamento deveu-se as respostas fisiológicas induzidas pelas injúrias mecânicas causadas pelo processamento mínimo. De acordo com Abeles et al. (1992), dentre os efeitos fisiológicos estimulados por esta técnica, o aumento da taxa respiratória e a síntese de etileno são as que mais influenciam a estabilidade do produto. As respostas fisiológicas podem ser amplificadas por outros fatores, e.g., pela espécie e a cultivar, o estágio de maturação no momento da colheita, processamento, temperatura de processamento e o nível de danos impostos aos tecidos (WATADA et al., 1996). Os danos mecânicos causados pelas diferentes etapas de preparo de produtos minimamente processados contribuem para a ruptura de membranas celulares (degradação de lipídios), a descompartimentalização de sistemas de enzimas e substratos (ROLLE & CHISM, 1987). Somando-se a isto, a ruptura das membranas das células propicia a exposição do conteúdo celular, culminando na proliferação de micro-organismos (JACOMINO et al., 2008). Esses eventos contribuem para que haja a oxidação de moléculas complexas, como o amido, açúcares e ácidos orgânicos, formando-se moléculas simples e energia para a reconstituição dos tecidos lesionados pelo processamento mínimo. Para a minimização dos efeitos causados pelo processamento mínimo, dentre as técnicas mais utilizadas, está a atmosfera modificada ativa. O emprego da atmosfera modificada baseia-se na restrição de O_2 e aumento de CO_2 , o que diminui significativamente a atividade respiratória, a oxidação de moléculas complexas, a atividade enzimática, entre outros.

No presente trabalho, o tratamento correspondente à mistura de gases G85 (2% O_2 + 5% CO_2 + 93% N_2) foi o primeiro a apresentar estabilização no acúmulo de CO_2 nas embalagens, i.e., no 5º dia de armazenamento. Este evento, notadamente, está relacionado às restritas quantidades de O_2 e demasiadas de CO_2 injetadas nas embalagens, sendo o oxigênio o principal fator para este comportamento. O CO_2 inibe a respiração celular em menor grau que a baixa concentração de O_2 . O efeito de 10% de CO_2 é similar àquele provocado por 2% de O_2 (AWAD, 1993). Entretanto, além de seu efeito direto na respiração, parece que o efeito do O_2 sobre a estabilização no acúmulo de CO_2 pode ter sido de natureza indireta. Os baixos níveis de oxigênio invariavelmente provocam uma diminuição na atividade metabólica e culminam num descenso da velocidade da senescência. Ou seja, as respostas do metabolismo vegetal a hipóxia se traduzem mais com uma depressão metabólica que diminui a demanda de energia do que pelo decréscimo da respiração propriamente dito (SOLOMOS, 1997).

As enzimas piruvato-desidrogenase e citocromo-oxidase também têm sua atividade reduzida por baixas concentrações de O_2 . Em condições de baixa concentração, ou mesmo na ausência, o piruvato não é convertido em acetil-CoA pela piruvato-desidrogenase para entrar no Ciclo de Krebs (JACOMINO et al., 2008). A citocromo-oxidase é um dos complexos respiratórios, sendo parte integrante da membrana mitocondrial interna. Este complexo contém os citocromos a e a_3 , além de dois íons Cu^{2+} , que estão envolvidos no processo de transporte de elétrons (CAMPBELL, 2001).

Mesmo os efeitos do CO_2 serem menos pronunciados do que os do O_2 , o dióxido de carbono pode interferir em alguns processos metabólicos. Uma das hipóteses é sua ação sobre a respiração por inibir a succinato desidrogenase, acarretando no acúmulo de succinato (CHITARRA & CHITARRA, 2005), uma das etapas do Ciclo de Krebs. Este evento impede a oxidação de succinato a fumarato e a redução do FAD a $FADH_2$ no Complexo II (Succinato-CoQ-oxirredutase) da cadeia transportadora de elétrons, causando uma depleção na respiração, culminando na não ocorrência das outras reações desta cadeia até a redução do O_2 com a formação de água (CAMPBELL, 2001). Gasperin et al. (2010) verificaram o efeitos de concentrações de CO_2 sobre a respiração de maçã “Royal Gala” e afirmam que a redução gradual da respiração causada pelo aumento de CO_2 pode estar relacionada à inibição de certas enzimas envolvidas no processo respiratório, como a succinato desidrogenase do ciclo de Krebs. Acrescentando-se a isto, o ciclo dos ácidos tricarboxílicos parece ser regulado pelo estado energético das mitocôndrias, bem como pela baixa concentração de O_2 e elevada de CO_2 , os quais têm efeito pronunciado na taxa de enzimas específicas do ciclo. Além disso, elevadas concentrações de CO_2 inibem a conversão de succinato a malato e de malato a piruvato (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Somando-se a isto, as altas concentrações de CO_2 , situação esta que foram submetidas as hortaliças deste estudo, reduzem a atividade das enzimas fosfrutoquinase (glicólise), piruvato-desidrogenase e citocromo-oxidase. A inibição da piruvato-desidrogenase compromete a produção de acetil-CoA (JACOMINO et al., 2008), comprometendo as etapas subsequentes dos ciclo de Krebs.

Outro motivo que resultou na baixa atividade respiratória foi a refrigeração. A refrigeração é o fator ambiental mais importante, não só do ponto de vista comercial, como também, por controlar a senescência, uma vez que regula as taxas de todos os

processos fisiológicos e bioquímicos associados (CHITARRA & CHITARRA, 2005) como, por exemplo, a atividade respiratória (JACOMINO et al., 2008).

Muitos trabalhos, além de verificar a influência da refrigeração na conservação de produtos minimamente processados, analisam o sinergismo desta técnica com o uso de atmosfera modificada. O uso de atmosfera modificada combinada com refrigeração em muitos casos conserva as características sensoriais e organolépticas dos produtos minimamente processados. Santos et al. (2006), trabalhando com armazenamento de pitangas, verificaram que o uso de atmosfera modificada associada à refrigeração permitiu manutenção dos sólidos solúveis, acidez titulável, dos açúcares solúveis totais e vitamina C, porém resultou em menor taxa de aumento nos carotenóides totais.

A embalagem de nylon poli pode também ter contribuído positivamente na diminuição da atividade respiratória, devido as suas características de permeabilidade a gases, principalmente pela baixa permeabilidade ao oxigênio ($0,6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ atm}^{-1} \text{ dia}^{-1}$). Essas características, em alguma extensão, possibilitam que o O_2 se mantenha em concentração suficientemente eficaz para retardar a respiração celular, porém, mais alta que a concentração crítica para o início da respiração anaeróbica (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Esse cenário manteve-se até o 10º dia de armazenamento, pois após esse período, o aparecimento de odores pode ter evidenciado o desenvolvimento da respiração anaeróbica.

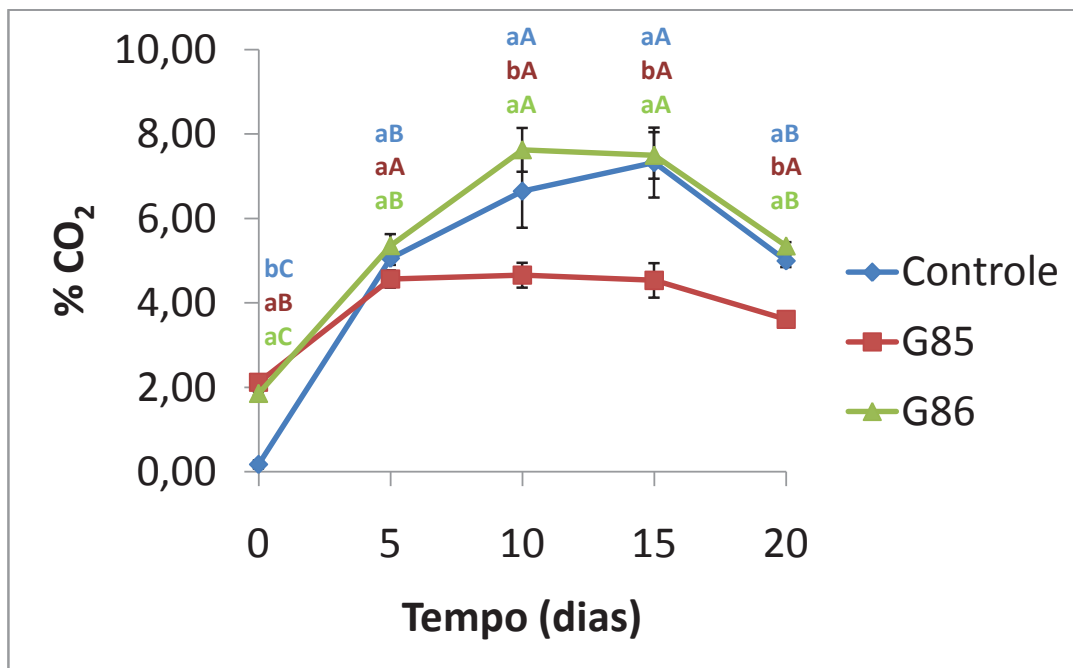


Figura 8. Acúmulo de CO₂ (%) em embalagem de nylon poli a 5°C, contendo salada mista minimamente processada durante 20 dias de incubação. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV% = 14,75.

Quanto à taxa respiratória, os tratamentos diferiram-se significativamente ao nível de 1% de probabilidade. O tratamento G85, a partir do 5º dia de armazenamento, distinguiu-se estatisticamente dos outros tratamentos, obtendo as menores taxas respiratórias. O tratamento controle e G86 tiveram taxas similares a partir do 10º dia de experimento (Figura 9). As maiores taxas respiratórias se deram no 5º dia de armazenamento, certamente fruto das etapas do processamento mínimo.

Dentre os componentes tecnológicos para aumentar o tempo de vida útil da salada mista estava a atmosfera modificada ativa. Além de diminuir a taxa respiratória, a modificação da atmosfera contribui para diminuir o escurecimento dos vegetais, devido à baixa disponibilidade de oxigênio (SOARES & GERALDINE, 2007; CALBO et al., 2007). Armazenamento em concentrações reduzidas de O₂ e elevadas de CO₂ causam reduções de longo prazo na taxa de respiração, bem como aumento da vida útil pós-colheita (CALBO et al., 2007). Em detrimento do oxigênio, é possível, também, que a redução da taxa respiratória ocorra pelo fato dos substratos respiratórios pararem

de reagir com as enzimas presentes nas células da superfície de corte (KLUGE & VITTI, 2007).

O controle da temperatura de armazenamento foi outro fator que contribui para a menor taxa respiratória da salada mista. A taxa de respiração dos tecidos vegetais aumenta exponencialmente com o aumento da temperatura (CENCI, 2011). Aliada a refrigeração pode estar a embalagem de nylon poli. Segundo Cenci (2011), a embalagem ajuda a conservar o produto. Entretanto, não se pode depositar todas as expectativas na embalagem, pois ela não resolve os problemas das outras etapas do processo, especialmente dois aspectos fundamentais, e, mais importantes, que são a qualidade da matéria-prima e a temperatura do produto (*in natura* e minimamente processado).

De acordo com os dados apresentados, sugere-se que a embalagem de nylon poli com a mistura de gases G85, aliada a refrigeração foi o tratamento que se mostrou mais adequada para a estabilização da respiração da salada minimamente processada composta por alface roxa, acelga e alface americana.

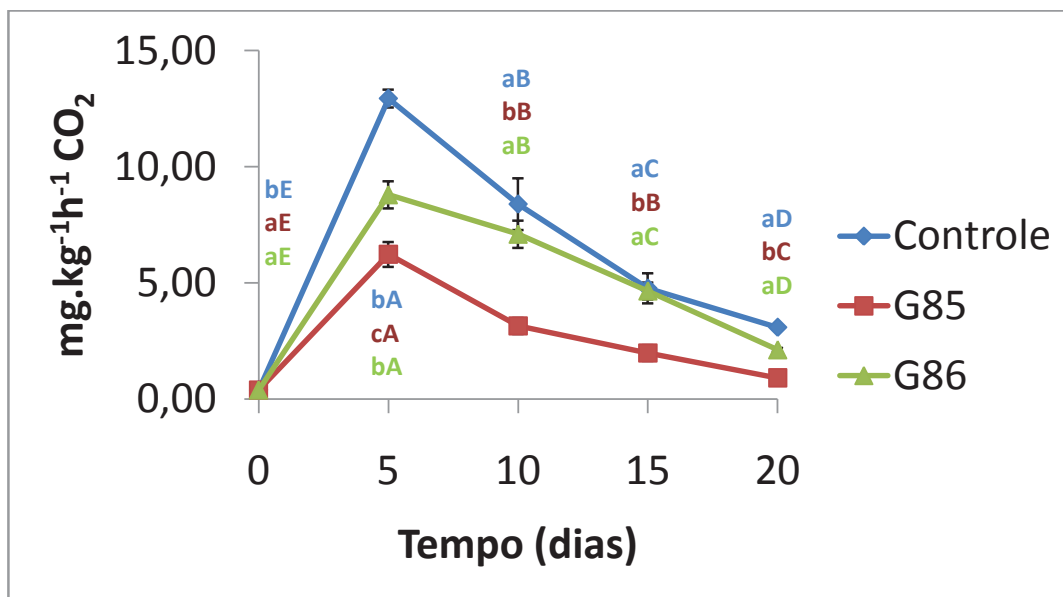


Figura 9. Taxa respiratória (mg.kg⁻¹.h⁻¹) em embalagem de nylon poli a 5°C, contendo salada mista minimamente processada durante 20 dias de incubação. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV% = 18,30.

6.2. Evolução de C₂H₄

Durante a condução do experimento, não foi verificada evolução de etileno nas embalagens, independente dos tratamentos. Aguila et al. (2007), trabalhando com rabanete minimamente processado armazenado a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $90 \pm 5\%$ em frascos de vidro, observou o mesmo comportamento. Vitt et al. (2009), em estudo realizado com batata minimamente processada a $5 \pm 1^\circ\text{C}$; $15 \pm 1^\circ\text{C}$ e $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 85% em frascos de vidro herméticos, obtiveram o mesmo resultado, não verificando a presença daquele hormônio em nenhum dos tratamentos.

Segundo a literatura, vários são os fatores que interferem na síntese, ação e, conseqüentemente na detecção da evolução de etileno, sendo que dentre eles pode-se citar o tipo de embalagem, temperatura de armazenamento e modificação da atmosfera (YIP et al. 1988; PONELEIT & DILLEY, 1993; AWAD, 1993; SOLOMOS, 1997), e características intrínsecas ao material vegetal (ALMEIDA, 2005).

Assim, as características da embalagem de nylon poli, i.e., permeabilidade a CO₂, O₂ e vapor de água podem ter contribuído para a formação de uma atmosfera de equilíbrio que impedisse a evolução de etileno no interior das embalagens, principalmente pela sua baixa permeabilidade a O₂ ($0,6 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{atm}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$), sendo este gás imprescindível em algumas reações na biossíntese de etileno. A permeabilidade dos filmes plásticos ao dióxido de carbono e ao oxigênio é determinante das atmosferas com composição modificada (LUENGO & CALBO, 2001), pois pode haver a formação de uma atmosfera ao redor das hortaliças que beneficie ou impeça o desenvolvimento de uma rota de biossíntese. Della Colleta (2009) verificou a biossíntese de etileno em embalagens de PEAD (permeabilidade a O₂ = $41,102 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{atm}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$).

Uma das técnicas mais comuns para inibição da formação e síntese do etileno é a diminuição da temperatura. As baixas temperaturas inibem em particular a síntese de ATP, necessária à conversão de metionina em S-adenosilmetionina, e diminuem a sensibilidade dos tecidos ao gás, alterando, portanto, a síntese de C₂H₄ (AWAD, 1993).

As baixas concentrações de O₂ e altas de CO₂ na atmosfera de armazenamento reduzem a taxa respiratória, a produção de etileno e outros processos metabólicos (REID, 2002). De acordo com Awad (1993), concentrações de CO₂ entre 6% e 10% adiam a indução da atividade da ACC sintase e a última reação na rota de biossíntese de etileno, i.e., a oxidação do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico pela ACC oxidase, culminando na inibição do início da produção autocatalítica de etileno.

Della Colleta (2009), verificando a evolução de etileno em dois momentos de colheita de cenoura, repolho roxo e couve (novembro de 2008 e janeiro de 2009), detectou que as concentrações de etileno encontradas em novembro de 2008 foram 2 a 3 vezes menores do que as encontradas em janeiro de 2009. Por outro lado, as concentrações de CO_2 tiveram comportamento inverso, mostrando em novembro valores mais elevados. Logo, os resultados do presente trabalho confirmam a inibição da síntese e produção de etileno sob elevadas concentrações de CO_2 .

A injeção de gás na embalagem, além de aumentar a concentração de CO_2 , restringe a quantidade de O_2 na atmosfera que circunda o produto, e é sabido que esse último gás pode interferir na biossíntese do etileno. O efeito da hipoxia sobre a biossíntese e ação do etileno pode ser indireto através dos efeitos inibidores sobre a atividade da ACC sintase e/ou síntese de (dos) transdutores da ação do etileno (SOLOMOS, 1997). Adicionalmente, Poneleit & Dilley (1993) e Yip et al. (1988) mostraram que o CO_2 e o O_2 podem afetar a atividade das enzimas envolvidas na biossíntese de C_2H_4 , particularmente a ACC oxidase que requer O_2 para sua ativação. Corroboram com isto experimentos com plantas tratadas com metionina. Sob condições anaeróbias, o etileno não foi produzido a partir daquele aminoácido, sendo que o ACC foi acumulado nos tecidos. No entanto, a exposição ao oxigênio fez surgir o etileno, sugerindo que este gás é necessário para a conversão de ACC em C_2H_4 (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A natureza do material vegetal (caule, folha, raiz ou fruto) apresenta considerável importância para a expressão de processos metabólicos envolvidos durante seu armazenamento. Todos os órgãos vegetais produzem etileno. Entretanto, todas as hortaliças derivadas de estruturas vegetativas – hortaliças de órgãos subterrâneos, de folhas, de caule – e as estruturas reprodutivas não-climactéricas produzem pouco etileno em condições normais (ALMEIDA, 2005).

Desta forma, o cenário formado, i.e., embalagem, temperatura de armazenamento, atmosfera modificada e natureza do material vegetal contribuiu para que não ocorresse a síntese de etileno durante o período de armazenamento. Este resultado é algo desejável, pois na ausência deste hormônio há a diminuição na velocidade da senescência e, logo, o aumento da vida útil do material vegetal.

6.3. Atividade enzimática, cor instrumental e fenóis totais

6.3.1. Alface roxa

De acordo com os resultados apresentados na Figura 10, relativos a concentrações de fenóis, PPO e índice de escurecimento, observou-se que a alface roxa minimamente processada apresentou valores com diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade tanto entre os tratamentos quanto entre os tempos de armazenamento e interação entre essas duas variáveis.

Como se pode verificar através da figura 10, os tratamentos utilizados, no presente estudo, levaram ao aumento no índice de escurecimento até o 10º dia de armazenamento. Para as amostras referentes ao controle e G85, a partir deste tempo de armazenamento, verificou-se decréscimo no escurecimento enzimático até o 15º dia de armazenamento e após um aumento até o 20º dia (Figura 10). Para a o tratamento G86, após o 10º dia, houve estabilização desta variável colorimétrica (Figura 10).

No que se refere concentração de fenóis, no presente trabalho, não se verificou variação significativa entre o 1º e 20º dia de armazenamento nos tratamentos G85 e G86 (Figura 10 - AR). No tratamento controle, a concentração de fenóis totais na alface roxa decresceu significativamente, ou seja, 51,40 $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF (tempo 0) para 37,00 $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF (tempo 20). As variações existentes nos demais tempos de armazenamento em todos os tratamentos podem estar ligadas a aleatoriedade com que as amostras foram coletadas para as análises, resultando ora em alíquotas referentes a tecidos mais jovens, ora a tecidos mais desenvolvidos.

A atividade da polifenoloxidase decresceu nas amostras avaliadas independente dos tratamentos utilizados (Figura 10). No período do 10º ao 15º dia, houve súbito aumento na atividade, sendo seguido de um declínio até o 20º dia. Nos tratamentos controle e G86, o comportamento foi marcado por acréscimos e decréscimos na atividade da polifenoloxidase (Figura 10). De acordo com trabalho de Reinoso (2011) utilizando alface roxa como componente de salada mista, a autora verificou aumento da atividade da PPO em atmosfera modificada ativa, cujos percentuais foram de 2% O_2 ; 5% CO_2 e; 93% N_2 durante o período de armazenamento. Entretanto, Souza (2010) sob atmosfera modificada ativa com 5% O_2 + 5% CO_2 + 90% N_2 observou diminuição na atividade da polifenoloxidase durante 15 dias de armazenamento. No presente estudo, para esta hortaliça, não foi possível observar correlações significativas entre as variáveis

analisadas, sendo a correlação IE x PPO $\rightarrow -0,46$; IE x fenóis $\rightarrow 0,096$ e; PPO x fenóis $\rightarrow -0,05$.

O parâmetro a^* mostrou-se com valores crescentes do início até o 5º dia de armazenamento independente dos tratamentos, levando a uma coloração do verde ao vermelho, o que se evidenciou, portanto, a biossíntese de antocianinas, caracterizando-se com uma resposta de defesa aos danos causados pelo processamento mínimo. A partir do 5º dia houve decréscimo no seu valor, cuja cor tendeu do vermelho para o verde (Figura 11). No tratamento controle, este decréscimo pode estar envolvido a atividade antioxidante que as antocianinas exercem. Quanto aos tratamentos com atmosfera modificada, estes podem ter levado a variações no pH do tecido que levaram a degradação das antocianinas. Em consequência disso, o pH mais baixo do conteúdo do vacúolo, em contato com o pH externo pode sofrer aumento, provocando as alterações observadas (perda de cor) (MORAIS et al., 2002). Adicionalmente, a temperatura de armazenamento pode ter causado injúrias aos tecidos da alface roxa. Em geral, o principal efeito do armazenamento de frutos sob condições que provocam danos pelo frio pode resultar em desnaturação de membranas, tais como plasmalema e tonoplasto (MURATA, 1990 *apud* MORAIS et al., 2002). Della Colleta (2009), em trabalho com repolho roxo em embalagem de PEAD a 5°C constatou decréscimo nas concentrações de antocianina durante 10 dias de armazenamento.

O ângulo Hue ($h = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.2) mostrou diferença em seus valores entre o início e o fim do armazenamento em todos os tratamentos. Os valores deste parâmetro colorimétrico tenderam da cor verde para a cor amarela, sugerindo a degradação da clorofila e surgimento de carotenoides (Figura 11). Assim os resultados referentes ao ângulo Hue destoam dos dados referentes aos teores relativos de clorofila, os quais se mantiveram estáveis durante todo o período de armazenamento.

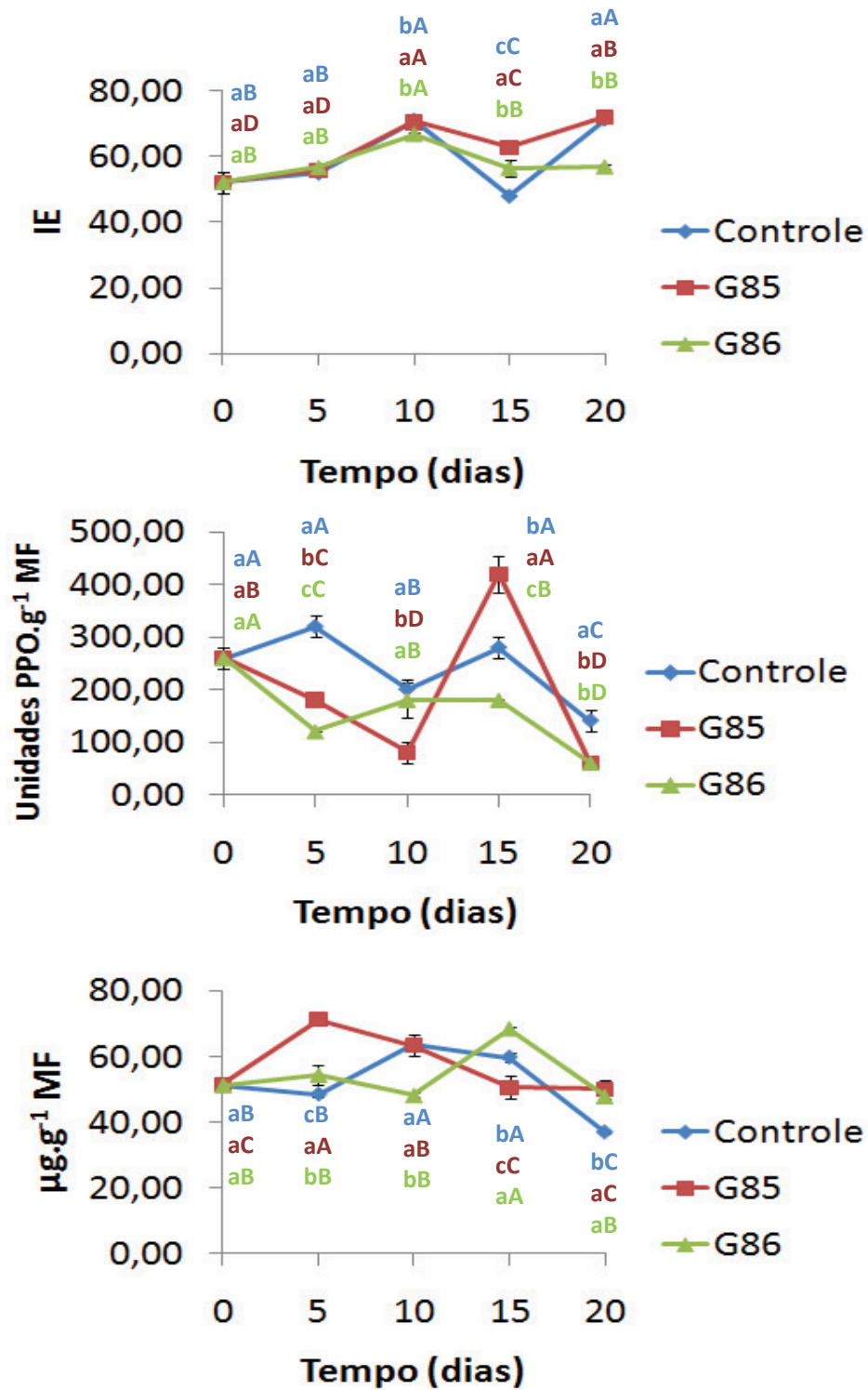


Figura 10. Índice de escurecimento (IE), atividade enzimática e fenóis totais em alface roxa como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

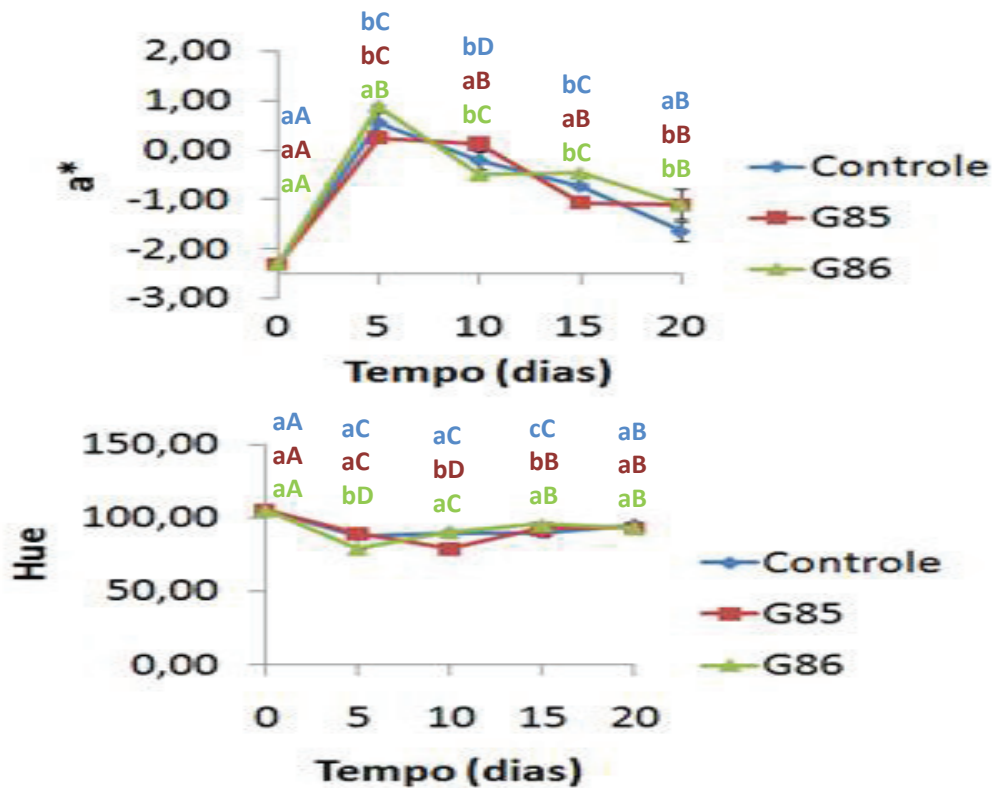


Figura 11. Parâmetro a^* e ângulo Hue ($h = \tan^{-1} (b^*/a^*) \cdot 2$) em alface roxa como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

6.3.2. Acelga

Para a atividade enzimática não se constatou diferença estatística entre os tratamentos, porém nos tempos de armazenamento, foi verificada significância nos dados obtidos. Nos tratamentos controle e G86, do primeiro ao último dia de armazenamento, houve decréscimo em seus valores. A atividade da polifenoloxidase do 1º ao 20º dia de armazenamento no tratamento G85 se manteve estável, apresentando, entretanto, variações significativas entre os tempos de armazenamento (Figura 12).

As concentrações de fenóis aumentaram ao longo dos vinte dias de armazenamento independente dos tratamentos utilizados, apresentando variações nos

seus teores nos diferentes tempos de armazenamento (Figura 12). Souza (2010) verificou redução nos teores de compostos fenólicos em acelgas em embalagens de nylon poli com atmosfera modificada passiva e manutenção desses metabólitos em atmosfera modificada ativa (G86). Os dados obtidos no presente trabalho contrastam com Reinoso (2011), cuja autora, observou diminuição concentrações de fenóis a partir do 5º dia de armazenamento em embalagens com mistura de gases G85 e atmosfera passiva.

Em relação ao índice de escurecimento (IE), os tratamentos G85 e G86 induziram aumento no parâmetro colorimétrico até o 5º dia de armazenamento, sendo que deste tempo até o 10º dia os valores se mantiveram constantes. A partir do 10º dia de armazenamento até o 20º dia ambos os tratamentos induziram aumento no índice de escurecimento na acelga (Figura 12). O tratamento controle expressou aumento do IE até o 10º dia de armazenamento, e então, a partir deste tempo de armazenamento ocorreu decréscimo nesta variável (Figura 12). Comportamento distinto foi constatado por Souza (2010), cuja autora, verificou que a acelga como parte da salada mista em embalagens com atmosfera modificada ativa (G86) ou passiva manteve o índice de escurecimento constante durante o período de armazenamento. Reinoso (2011) observou que o índice de escurecimento da acelga apresentou aumento durante todo experimento nas duas embalagens testadas, i.e., controle e G85. Não houve correlações significativas entre as variáveis analisadas, sendo a correlação IE x PPO $\rightarrow -0,35$; IE x fenóis $\rightarrow 0,38$ e; PPO x fenóis $\rightarrow -0,496$.

O parâmetro a^* expressou variações durante o experimento, entretanto manteve-se na faixa do verde em todos os tratamentos (Figura 13). Como escrito anteriormente, as variações verificadas decorrem da coleta aleatória do material vegetal para obtenção dos dados. Os dados referentes ao parâmetro a^* refletem a manutenção dos teores relativos de clorofila nesta hortaliça.

Para o ângulo Hue, apesar das variações durante os tempos de armazenamento, seus valores permaneceram sempre na faixa do amarelo ($90 - 180^\circ$). Como no parâmetro a^* , a variação nos dados devem-se a natureza do material vegetal para aquisição dos dados (Figura 13).

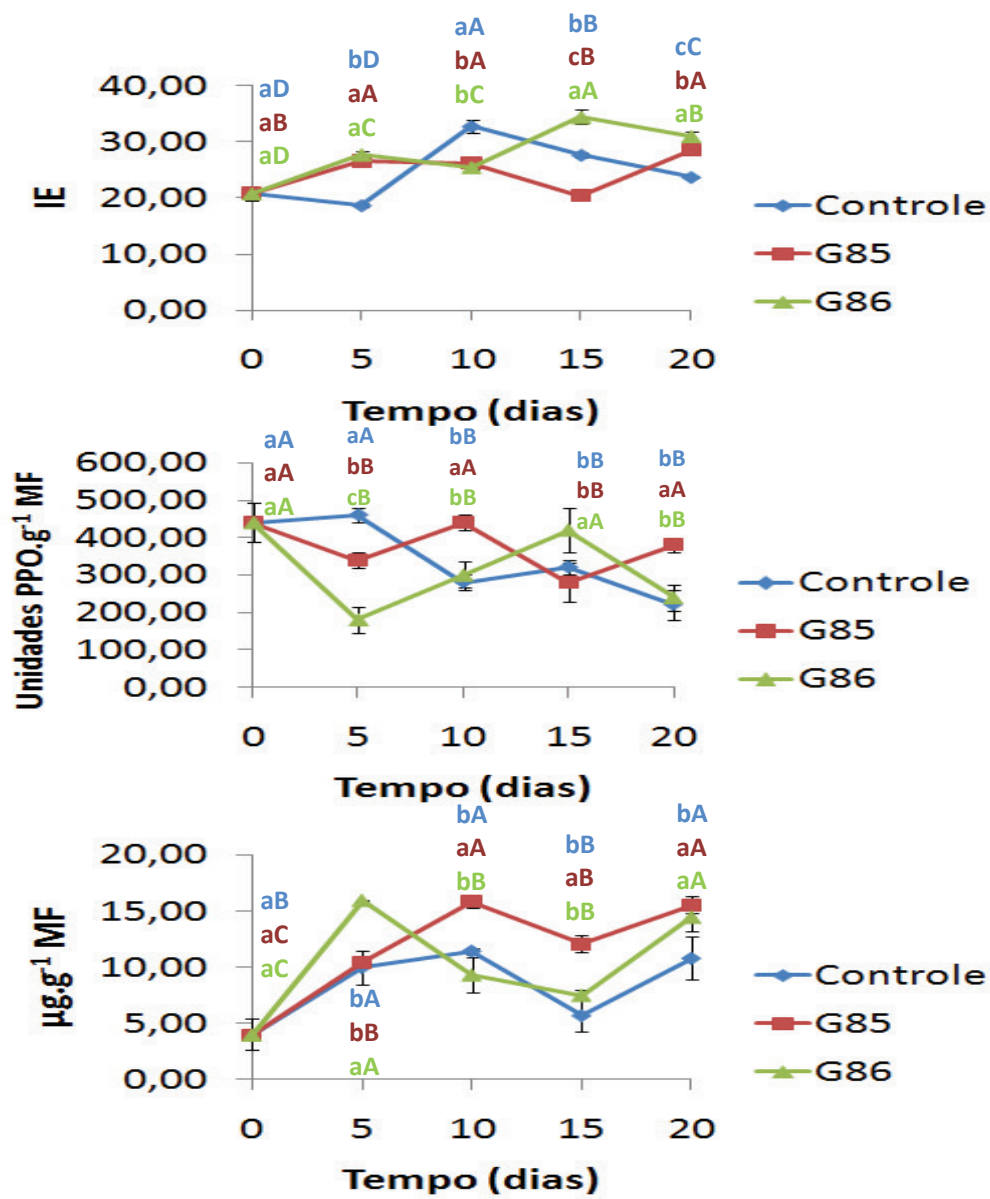


Figura 12. Índice de escurecimento (IE), atividade enzimática e fenóis totais em alface americana como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

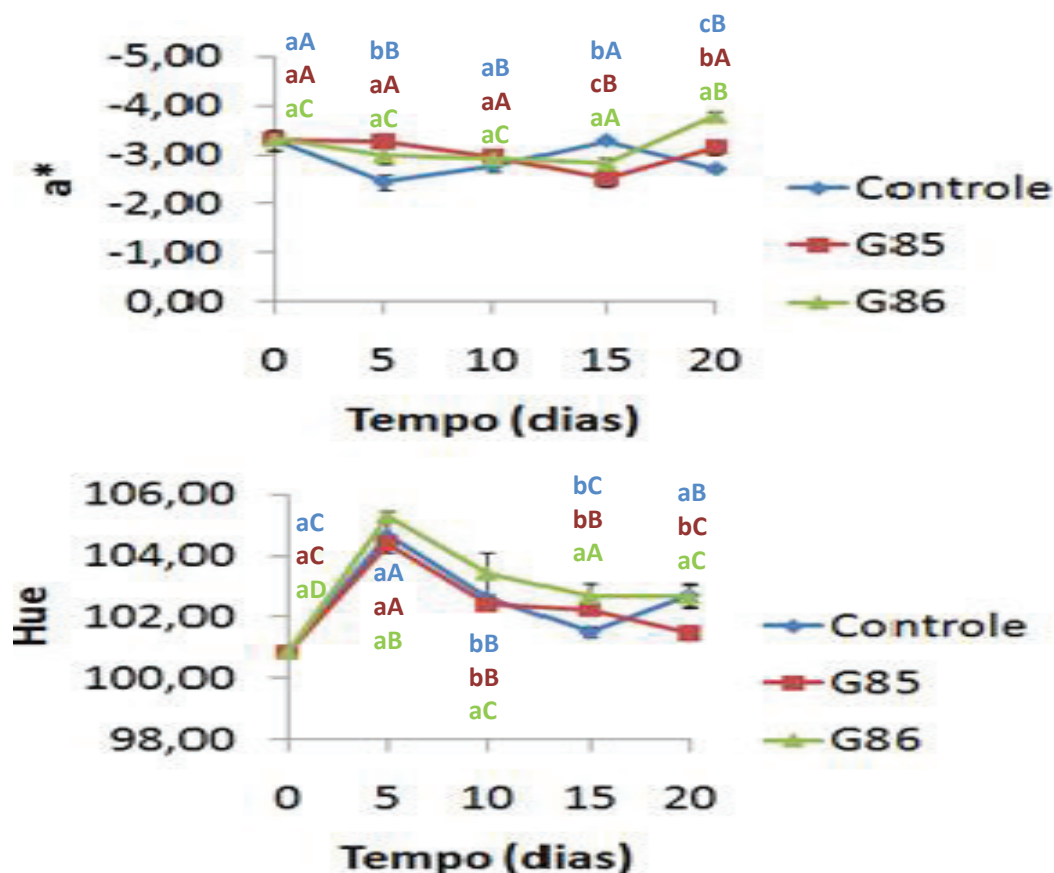


Figura 13. Parâmetro a^* e ângulo Hue ($h = \tan^{-1} (b^*/a^*) \cdot 2$) em acelga como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

6.3.3. Alface americana

A alface americana minimamente processada como constituinte de salada mista seguiu mesma tendência da alface roxa, obtendo diferenças significativas em todas as variáveis aqui discutidas. No tratamento controle foram observadas as maiores variações no índice de escurecimento, principalmente do 5º ao 10º dia, no qual este parâmetro colorimétrico mostrou acréscimo em seu valor (Figura 14). Paralelamente a este comportamento, houve aumento da atividade da polifenoloxidase e decréscimo na concentração de fenóis (Figura 14). Neste mesmo intervalo de tempo para esta hortaliça, foram verificados acréscimos na porcentagem de dióxido de carbono nas embalagens,

bem como as maiores taxas respiratórias (Figura 7 e Figura 8). Diante deste cenário, neste intervalo de tempo, parece que o escurecimento enzimático foi caracterizado pela atividade da polifenoloxidase (Figura 14). Para as embalagens contendo mistura de gases, i.e., G85 e G86, não se observou diferença significativa entre estes tratamentos quanto ao índice de escurecimento, bem como correlações significativas entre esta variável e a concentração de fenóis e a atividade da polifenoloxidase, ou seja, IE x PPO \rightarrow 0,05; IE x fenóis \rightarrow -0,02 e; PPO x fenóis \rightarrow -0,35.

Para o tratamento controle, Souza (2010) verificou para o teor de fenóis resultado semelhante ao obtido neste trabalho, havendo aumento até o 5º dia de armazenamento, sendo em seguida, observada uma redução nas concentrações deste metabólito (Figura 14).

Não houve diferenças significativas ($p < 0,01$) na interação para os parâmetros a^* e ângulo Hue, sugerindo novamente a manutenção dos teores relativos de clorofila nesta hortaliça (Figura 15).

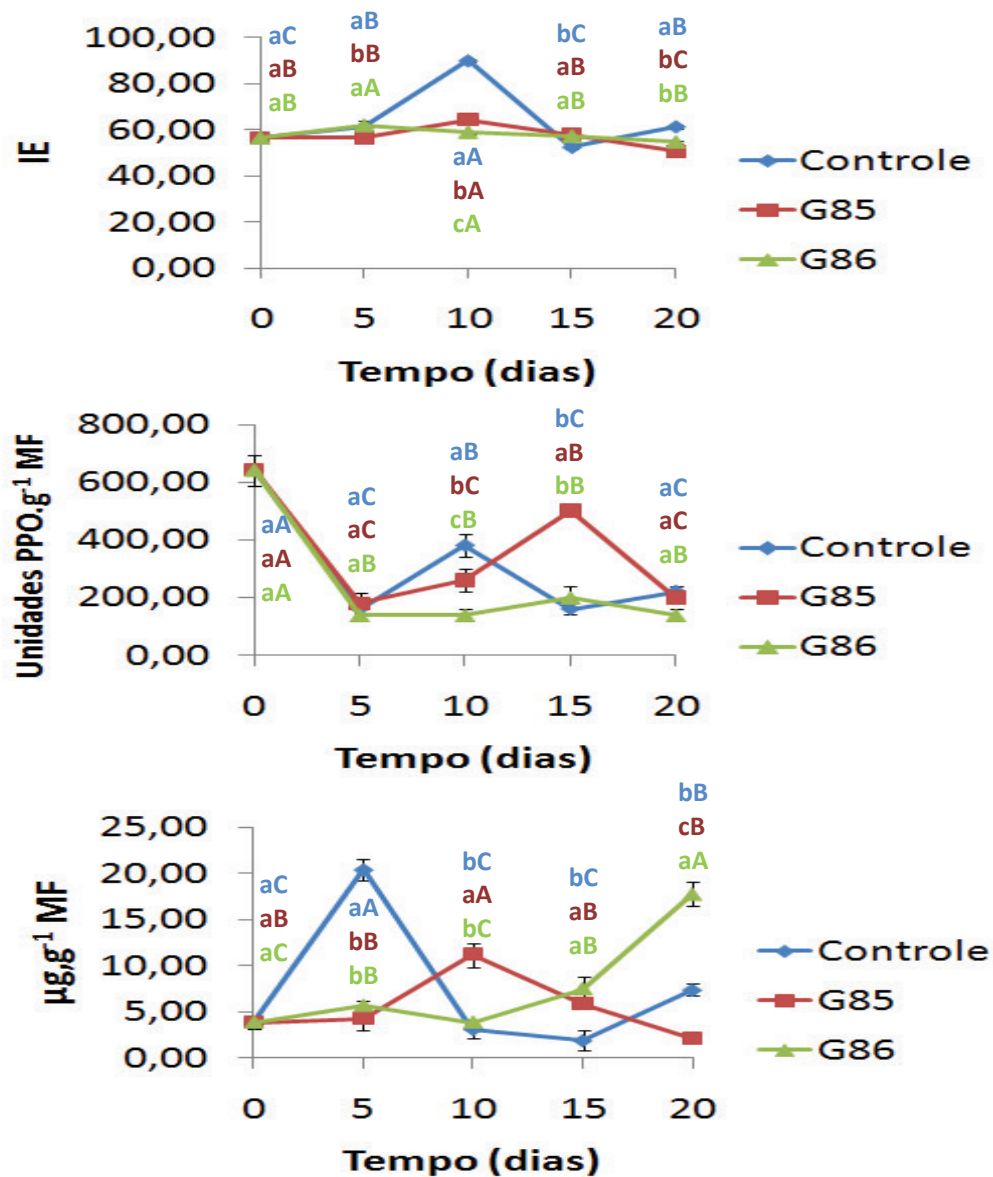


Figura 14. Índice de escurecimento (IE), atividade enzimática e fenóis totais em acelga como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

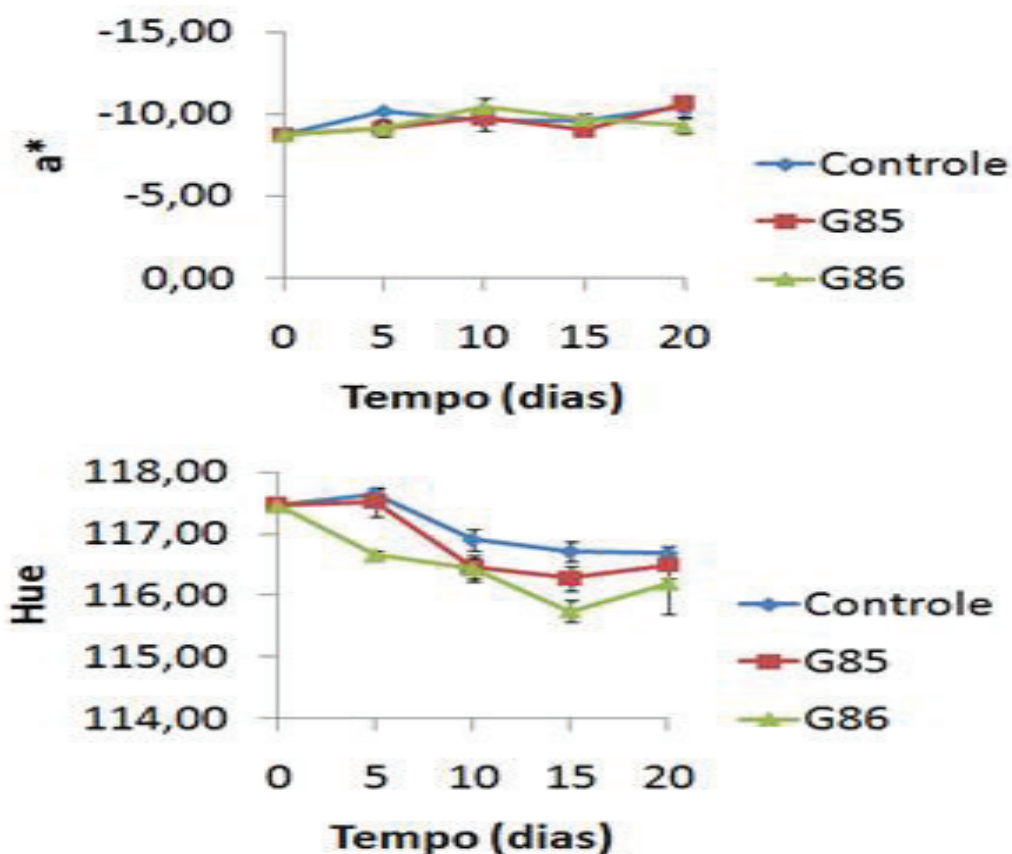


Figura 15. Parâmetro a^* e ângulo Hue ($h = \tan^{-1} (b^*/a^*).2$) em alface americana como constituinte de salada mista minimamente processada armazenada a 5°C em embalagem de nylon poli. As barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas por uma mesma letra minúscula no eixo y e maiúscula no eixo x não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Devido à inexistência de correlações significativas, na maioria dos casos, entre atividade enzimática, índice de escurecimento e fenóis totais em alface roxa, acelga e alface americana minimamente processadas como constituintes de salada mista, algumas ponderações se fazem necessárias.

A restrita quantidade de oxigênio, acrescida do rápido consumo do mesmo para a respiração das hortaliças resulta na diminuição do oxigênio no interior das embalagens (SOUZA, 2010). A oxidação de fenóis se dá em função da captura de elétrons por dois átomos de cobre que se encontram no sítio ativo da enzima, sendo que a PPO catalisa dois tipos de reações (hidroxilação de monofenóis a ortodifenóis e a oxidação de ortofenóis a ortoquinonas), ambas envolvendo oxigênio (MAZZAFERA et al., 2002).

Segundo Cabello (2005), os fatores responsáveis pela reação são as enzimas, o substrato e o oxigênio e, teoricamente, a interferência em um desses fatores impede a reação de ocorrer, controlando assim a oxidação.

O dano mecânico causado nos tecidos da planta controla a expressão gênica (KARSTEN, 2009). Genes não relacionados à defesa da planta têm a expressão diminuída, enquanto os que estão envolvidos com a cicatrização ao dano ou ataque a patógenos são aumentados (KOMBRINK & HAHLBROCK, 1990 *apud* KARSTEN, 2009). Entre os genes que tem a expressão aumentada estão os das enzimas polifenoloxidase e peroxidase (OKEY et al., 1997), sendo que a polifenoloxidase parece estar relacionada à síntese de lignina, eventos ligados à fotossíntese e a respiração celular (ALENCAR & KOBLITZ, 2008).

A lignificação da parede celular é um importante mecanismo de defesa, formado pela polimerização de precursores produzidos na rota dos fenilpropanóides, sendo iniciada pela desaminação da fenilalanina para ácido cinâmico e catalisada pela enzima fenilalanina amônio-liase. Vesículas armazenadoras de fenóis migram em direção à parede celular, onde ocorre descompartimentalização dos fenóis em porções glicosídicas. Os fenóis livres sofrem oxidação, ligam-se a parede celular ou são polimerizados. A ação do H_2O_2 catalisada por uma peroxidase sobre os alcoóis 4-cumaril, coniferil e sinapsil leva a geração de radicais livres e à formação de lignina (PASCHOLATI & LEITE, 1994 *apud* MELLO, 2009).

Outros fatores que podem interferir na intensidade do escurecimento são a temperatura, o pH e atividade de água. A redução da temperatura, dentre outros, diminui a atividade enzimática, exceto da peroxidase, retardando desta forma o escurecimento em produtos minimamente processados (JACOMINO et al., 2008). O pH pode estar envolvido com uma eventual situação de anaerobiose (o que foi evidenciado pelo surgimento de odor), que culminou na sua diminuição e, concomitantemente, no descenso da atividade enzimática. No geral, uma atividade de água baixa restringe a mobilidade dos reagentes e o escurecimento é reduzido. Já em atividade de água mais altas, ele atinge seu máximo. Em teores de água mais altos, a água dilui os reagentes, e a taxa de escurecimento diminui (FELLOWS, 2006). A idade e a qualidade do material vegetal, bem como a época de colheita podem ter sido outros fatores que levaram a obtenção dos resultados deste trabalho.

6.4. Teor relativo de clorofila

A alface roxa e acelga como constituintes de salada mista minimamente processada mantiveram constantes os teores relativos de clorofila entre o 1º e o 20º dia de armazenamento, apresentando, entretanto, variações nos tempos de armazenamento (Tabela 1 e Tabela 2). Na alface roxa, a verificação da degradação da clorofila pode ter sido interferida pela presença de antocianinas nesta hortaliça. As antocianinas são glicosídeos solúveis em água e encontram-se principalmente no vacúolo das células de frutos e algumas hortaliças. Sua coloração forte usualmente mascara a dos carotenóides e a das clorofilas (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Tabela 1. Teor relativo de clorofila (Índice SPAD) de alface roxa minimamente processada como componente de salada mista de acordo com o tratamento controle, G85 e G86.

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	5	10	15	20
Controle	9,87 aA	7,64 bB	8,70 aA	9,29 aA	9,46 aA
G85	9,87 aA	9,24 aA	7,62 bB	8,72 aA	9,68 aA
G86	9,87 aA	8,71 aB	8,76 aB	8,65 aB	10,11 aA

*As médias seguidas por uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV% = 6,09.

Tabela 2. Teor relativo de clorofila (Índice SPAD) de acelga minimamente processada como componente de salada mista de acordo com o tratamento controle, G85 e G86.

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	5	10	15	20
Controle	0,98 aA	0,94 aA	0,81 aA	0,89 aA	0,91 aA
G85	0,98 aA	0,95 aA	0,87 aA	0,90 aA	0,87 aA
G86	0,98 aA	1,01 aA	0,89 aA	1,04 aA	0,94 aA

*As médias seguidas por uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV% = 9,26.

Quanto à alface americana, esta mostrou aumento nos teores relativos de clorofila, sendo tal resultado, provavelmente, fruto da natureza do material coletado para análise (Tabela 3).

Tabela 3. Teor relativo de clorofila (Índice SPAD) de alface americana minimamente processada como componente de salada mista de acordo com o tratamento controle, G85 e G86.

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	5	10	15	20
Controle	5,62 aB	5,64 aB	6,60 aA	6,17 aB	6,89 aA
G85	5,62 aB	5,82 aB	4,58 bC	5,72 aB	6,83 aA
G86	5,62 aB	4,63 bC	5,95 aB	5,50 aB	6,47 aA

*As médias seguidas por uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV% = 6,69.

A baixa temperatura de armazenamento (5°C) foi um dos fatores que contribuiu para a conservação deste pigmento das hortaliças desta salada. O efeito da baixa temperatura se dá devido a diminuição do metabolismo do produto e, consequentemente, no controle de processos degradativos e sobre a senescência dele (HEATON & MARANGONI, 1996). Carnelossi et al. (2002) constataram que em embalagens de baixa permeabilidade, a 1°C e 5°C, que os teores totais de clorofila em couve minimamente processada se mantiveram constantes durante o período de armazenamento. Entretanto, a 10°C, o teor de clorofila total reduziu-se consideravelmente, em todos os tratamentos, e no 10º dia o produto se apresentava deteriorado.

A atmosfera modificada, em virtude dos seus efeitos inibitórios no metabolismo foi outro componente para a manutenção dos teores relativos de clorofila. A redução dos níveis de O₂ e o aumento do CO₂ na atmosfera em volta de produtos frescos pode ser uma alternativa para estes produtos, pois apresentam vários efeitos positivos como abrandar a respiração e promover a retenção de clorofila e outros pigmentos (MANTILLA et al., 2010). Adicionalmente, a restrição nas quantidades de O₂ no interior da embalagem culminou na depleção da síntese de etileno.

O aumento da atividade da clorofilase, resultando na perda de clorofila, tem sido relatado por alguns autores como uma consequência da síntese e da atividade do etileno (WATADA et al., 1990). A síntese de etileno ocorre em razão do aumento na síntese e na atividade de enzimas específicas. O etileno resultante interage com um receptor e novos mRNAs acumulam-se, conduzindo à síntese “de novo” das enzimas específicas. O etileno funciona como uma chave que abre a fechadura, promovendo um comando

para uma série de respostas do vegetal (amadurecimento e amaciamento de frutos, quebra de clorofila, etc.). Os processos fisiológicos como, por exemplo, o amadurecimento de frutos e senescência de órgãos, são processos resultantes da transcrição do DNA e tradução de mRNAs em proteínas (enzimas). A presença do etileno estimula a respiração e o “turnover” de macromoléculas, bem como inicia a produção de novos mRNAs e enzimas (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Logo, com o ambiente formado, i.e., refrigeração, modificação da atmosfera e utilização da embalagem de nylon poli, foi possível a inibição deste ciclo e, consequentemente a manutenção dos índices relativos de clorofila.

6.5. Desordem fisiológica e aparecimento de odor

No 10º dia de armazenamento foi observada a formação de uma coloração rósea nas nervuras centrais das folhas de alface americana, sendo que isto foi atribuído a uma desordem muito comum em maçãs chamada de “core flush” (Figura 16). Em maçãs, este distúrbio se desenvolve durante a armazenagem como uma descoloração castanha ou rosa da polpa, enquanto o tecido permanece firme. Esta desordem fisiológica tem sido associada à injúrias por CO₂, mas também pode estar associada à lesão pela refrigeração e degenerescência senescente (THOMPSON, 2010). O mecanismo pelo qual a desordem não está bem esclarecido, embora pelas pesquisas, indique-se acúmulo de succinato e de produtos da fermentação nos tecidos danificados (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Roversi & Masson (2005) verificaram a presença de escurecimento de coloração rósea-ferrugem nas nervuras centrais e pelo escurecimento das folhas de alface quando levemente cortadas ou amassadas.



Figura 16. Detalhe da coloração rósea-ferrugem em nervuras de alface americana.

O aparecimento de odor também foi verificado a partir do 10º dia de experimento. O sabor e o aroma normais dos produtos podem ser modificados pela produção de compostos voláteis com odores indesejáveis, como consequência de estresses e desordens fisiológicas advindos do manuseio ou armazenamento impróprios. Nesse caso, o aparecimento do aroma indesejável pode ser devido a reações de peroxidação lipídica e não pela anaerobiose. A peroxidação é uma reação em cadeia que se inicia e propaga com a presença de radicais livres. Essas moléculas (gordura como substrato oxidável) são muito reativas e em contato com oxigênio formam peróxidos. Os peróxidos em reação com outra molécula oxidável induzem a formação de hidroperóxidos e mais radicais livres (BELLAYER, 2009). Os hidroperóxidos dão origem a dois radicais livres, capazes de atacarem outras moléculas e formarem mais radicais livres, aumentando os peróxidos. A terminação da oxidação se dá com o rompimento de moléculas contendo o radical livre para formarem produtos de peso molecular mais baixo (aldeídos, cetonas, alcoóis e ésteres), os quais são voláteis e associados aos odores de rancificação (BELLAYER, 2009).

Nos tratamentos com uso de atmosfera modificada, a composição da mistura de gases pode ter levado ao desenvolvimento de anaerobiose, caracterizado pela alta atividade respiratória ocasionada pelos danos do processamento mínimo nos primeiros

dias de armazenamento. Quando a respiração anaeróbia é ativada, há a fermentação do piruvato a lactato, pela ação da lactato desidrogenase (LDH), responsável pela formação de ácido láctico. O ácido láctico leva a uma acidificação celular, e uma auto-inibição da LHD, que é funcional preferencialmente em pH neutro. Dessa forma, a LHD é substituída pela piruvato descarboxilase, responsável pela síntese de acetaldeído, que na presença da álcool desidrogenase origina o etanol, tóxico para as células. Adicionalmente, em condições de restrição de oxigênio os prótons saem gradualmente do vacúolo para o citoplasma, somando-se a acidez gerada pela ruptura inicial da fermentação. Em decorrência da falta de ATP, o sistema de transporte ativo de prótons para o vacúolo fica lento, causando uma acidose citosólica e o começo da morte celular. Consequentemente, o sistema de membranas se degenera, a mitocôndria e microcorpos se desintegram, causando a morte celular (TAIZ & ZEIGER, 2009; LARCHER, 2000).

Em muitas frutas e hortaliças também pode haver a síntese e acúmulo de acetaldeído em condições de aerobiose (atmosfera normal), o que significa que o seu acúmulo nos tecidos vegetais pode ocorrer mesmo sem aplicação de tratamentos drásticos ou estresses (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A embalagem com a mistura de gases G85 (2% O₂ + 5% CO₂ e 93% N₂) apresentou menor acúmulo de CO₂ e taxa respiratória durante o período de armazenamento, apresentando-se por esta razão a melhor mistura de gases para o acondicionamento de salada mista minimamente processada composta por alface roxa, acelga e alface americana. Adicionalmente, a técnica da atmosfera modificada parece ter inibido juntamente com outros fatores como a refrigeração a síntese de etileno pelas hortaliças deste estudo. Entretanto, se fazem necessárias pesquisas sobre a permeabilidade da embalagem de nylon poli a este hormônio.

Não houve correlações significativas entre índice de escurecimento, atividade enzimática (PPO) e fenóis totais em alface roxa, acelga e alface americana como constituintes de salada mista minimamente processada. Esse resultado sugere a investigação da atividade de outras enzimas, i.e., fenilalanina amônio-liase, peroxidase e pectina metilesterase para determinação das causas de escurecimento.

Os teores relativos de clorofila se mantiveram estáveis durante o período de armazenamento, certamente pelo efeito da refrigeração e nos tratamentos com atmosfera modificada em virtude do uso de mistura de gases que inibiram processos fisiológicos relacionados à senescência. Entretanto, os dados relativos ao ângulo Hue para alface roxa, destoam dos dados obtidos via clorofilômetro, sugerindo o uso de outras metodologias para verificação dos resultados do presente trabalho.

Houve ocorrência de desordem fisiológica devido ao acúmulo de CO₂ e aparecimento de odor a partir do 10º dia de experimento. Por este motivo, apesar da mistura de gases G85 ter inibido alguns processos fisiológicos de maneira mais precoce, sugere-se o uso de outras misturas de gases com menor concentração de CO₂ no intuito de se evitar o aparecimento de desordens e odores e, conseqüentemente, da diminuição da vida útil desta salada mista.

O consumo desta salada mista deve ser efetuado até 8 dias após seu processamento. Isto se deve ao aparecimento de odores a partir do décimo dia de armazenamento, o que culmina na rejeição desta salada pelo consumidor. Em virtude disto, aconselha-se a aumentar o número de avaliações realizadas durante o período de armazenamento para aferir mais precisamente o tempo de vida útil da salada mista do presente estudo. Acrescentando-se a isto, o uso de análise sensorial se mostra como uma

ferramenta útil para a verificação da validade da salada mista deste estudo. Tais procedimentos se fazem imprescindíveis para garantir a segurança dos alimentos.

A escassez de informações sobre as respostas fisiológicas deste tipo de alimento faz necessária maior indagação científica para que haja mais informações referentes o tempo de vida de útil deste tipo de produto. Tais indagações se tornam imprescindíveis, pois estamos diante de uma sociedade cada vez mais exigente em produtos saudáveis e prontamente disponíveis para consumo. Além disso, outros produtos compostos por outros órgãos vegetais como tubérculos e raízes merecem desenvolvimento de estudos, pois cada um deles responde diferentemente ao processamento mínimo e ao ambiente de armazenamento aos quais são submetidos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT JUNIOR, M.E. **Ethylene in plant biology**. California: Academic Press, 1992. 414 p.
- ALENCAR, S.M.; KOBLITZ, M.G.B. Oxidorredutases. In: KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 5, p. 125-152.
- ALMEIDA, D. **Manuseamento de produtos hortofrutícolas**. 1. ed. Porto: Principia, Publicações Universitárias e Científicas, 2005. 112p. Disponível em: <http://www2.spi.pt/agrovalorizacao/docs/Manual_II.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2011.
- ARAÚJO, H.G.G.S.; MATOS, P.N.; FURTADO, M.C.; MENEZES, Y.B.S.; CASTRO, A.A.; CARNELOSSI, M.A.G. Influência do tipo de embalagem na conservação de rúcula minimamente processada [resumo]. VI ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO. 2011.
- ARAÚJO, H.G.G.S.; MATOS, P.N.; REINOSO, A.C.L.; FURTADO, M.C.; MENEZES, Y.B.S.; CASTRO, A.A.; CARNELOSSI, M.A.G. Avaliação da qualidade sensorial de salada mista minimamente processada composta por acelga, alface americana e alface roxa [resumo]. VI ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO. 2011.
- AVENA-BUTYILLOS, R.J.; CISNEROS-ZAVALLOS, L.A.; KROCHTA, J.M.; SALVEIT, M.E. Optimization of edible coatings on minimally processed carrots using response surface methodology. Trans. **ASAE**. v. 36, n.3, p. 801-5, 1993.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114p.
- BELLAVER, C. **Peroxidação de lipídios e índice de peróxidos**. 2009. Disponível em: <http://www.qualyfoco.com.br/arquivos_publicacoes/arquivos/1266832145_2009_5_Jan_Fev_Indice_de_Peroxido.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2012.
- BOLIN, H.R., SAFFORD, A.E., KING JUNIOR., A.D., HUXSOLL, C.C. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. **J. Food Science.**, v. 42, n. 5, p. 1319-21, 1977.
- BRECHT, J.K., Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, v. 30, n. 1, p. 18-22, 1995.
- CABELLO, C. Extração e pré-tratamento químico de frutanos de yacon, *Polymnia sonchifolia*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 25(2): p. 202-207, abr.-jun. 2005.
- CAETANO, L.C.S. **A cultura da alface: perspectivas, tecnologias, viabilidade**. Niterói: PESAGRO-RIO, 2001. 23 p.

CALBO, A.G.; MORETTI, C.L.; HENZ, G.P. **Respiração de frutas e hortaliças**. Comunicado técnico 46. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. 10 p. Disponível em: <http://bbeletronica.cnph.embrapa.br/2007/cot/cot_46.pdf>. Acesso em: 07 maio 2012.

CARNELOSSI, M.A.G.; YAGUIU, P.; REINOSO, A.C.L.; ALMEIDA, G.R.O.; LIRA, M.L.; SILVA, G.F.; JALALI, V.R.R. Determinação das etapas do processamento mínimo de quiabo. **Horticultura Brasileira**, vol.23, nº. 4, Brasília, p. 970-975, Outubro/Dezembro de 2005.

CARNELOSSI, M.A.G. **Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea* cv. *acephala*) minimamente processadas**. Viçosa: UFV, 81p, 2000.

CARNELOSSI, M.A.G. Saladas mistas minimamente processadas: desafios, tendências e perspectivas. In: VI ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS – HORTALIÇAS: *Anais...* Nova Friburgo, 2011. p. 41-42.

CARNELOSSI, M.A.G.; SILVA, E.O.; CAMPOS, R.S.; SOARES, N.F.F.; MINIM, V.P.R.; PUSCHMANN, R. Conservação de folhas de couve minimamente processadas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.2, p.149-155, 2002.

CASTAÑER, M., GIL, M.I., ARTÉS, M.V.R.F. Browning susceptibility of minimally processed Baby and Romaine lettuces. **Eur Food Technol.**, v. 209, p. 52-56, 1999.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CENCI, S. A.. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistema de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. Cap. 1, p. 09-17.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. processamento mínimo de alface. In: MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA hortaliças, 2007. Cap. 16, p. 299-341.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: Ed. da UFLA, 2005. 783p.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: UFV, 1998. 88p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL, FAEPE, 1990. 293p.

COUTURE, R., CANTWELL, M.I., KE, D., SALTVEIT JUNIOR., M.E. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. **HortScience**, v.28, n.7, p.723-5, 1993.

DELLA COLLETA, R.C.L. **Respostas fisiológicas de cenoura, repolho roxo e couve minimamente processados isolados e em combinação.** 2009. Tese (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

DURIGAN, J.F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças.** Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 69p.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática.** 2. ed. Porto Alegre, RS: ARTMED, 2006. 602p.

FILGUEIRA, F.A.R. **Manual de olericultura: cultura e comercialização de hortaliças.** 2. ed. ampl. e rev. São Paulo: Agronômica Ceres, 1982. 357p.

GARCÍA-GIMENO, R.M.; ZURERA-COSEN, G. Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, p. 31-38, 1997.

GASPERIN, A.R.; BRACKMANN, A.; BOTH, V.; SCHORR, M.R.W.; SANTOS, J.R.A.; THEWES, F.R. Interferência de vários níveis de CO₂ na produção de etileno e respiração de maçã “Royal Gala”. In: 25ª JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2010, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: UFSM, 2010. Disponível em: <http://portal.ufsm.br/jai2010/anais/trabalhos/trabalho_1041259468.htm>. Acesso em: 30 abr. 2012.

GODIN, A. **Catálogo Brasileiro de Hortaliças: saiba como plantar e aproveitar 50 das espécies mais comercializadas no País.** Brasília: SEBRAE e EMBRAPA, 2010. 59p.

GORNY, J.R. A Summary of CA and MA Recommendations for Selected Fresh-cut Fruits and Vegetables. **Postharvest Horticulture Series**, nº 22A, p. 95-145. University of California, Davis. 2001.

HEATON, J.W., MARANGONI, A.G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. **Trends Food Sci. Tech.**, v.7, p.8- 15, 1996.

HEIMLER, D.; ISOLANI, L.; VIGNOLINI, P.; TOMBELLI, S.; ROMANI, A. Polyphenol content and antioxidant activity in some species of freshly consumed salads. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1724-1729, 2007.

HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, p. 19-32, 1999.

HORTALIÇAS minimamente processadas. **Serviço Brasileiro de Apoio Às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE**, Brasília, 2008. Disponível em: <[http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/0883FDA8A4AF0BAE832574DC004682B0/\\$File/NT0003907E.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/0883FDA8A4AF0BAE832574DC004682B0/$File/NT0003907E.pdf)>. Acesso em: 13 out. 2011.

INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION. **Fresh-cut produce handling guidelines.** 3rd ed. Newark: Produce Marketing Association, 1999. 39p.

JACOMINO, A.P.; ARRUDA, M.C.; BRON, I.U.; KLUGE, R.A. Transformações bioquímicas em produtos hortícolas após a colheita: Frutas e hortaliças minimamente processadas. In: KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 6, p. 153-190.

KARSTEN, J. **Envolvimento da peroxidase e polifenoloxidase no bloqueio xilemático de hastes de ave-de-paraíso (*Strelitzia reginae*)**. 2009. Tese (Magister Scientiae) – Universidade Federal Viçosa, Viçosa, 2009.

KAYS, S.J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York. Von Nostrand, Reinhold, 1991.

KENDRA, K.V. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. **LWT - Food Science and Technology**. v. 43. p. 381-392, 2010.

KIM, J.G., LUO, Y.; GROSS, K.C. Effect of package film on the quality of fresh-cut salad savoy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, p. 99–107, 2004.

KLEIN, B.P. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. **J. Food Qual.**, v. 10, p. 179-93, 1987.

KLUGE, R.A.; VITTI, M.C.D. Processamento mínimo de beterraba. In: MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA hortaliças, 2007. Cap. 18, p. 373-382.

KUBOTA, N. Phenolic content and L-phenylalanine ammonia-lyase activity in peach fruit. In: Modern methods of plant analysis - fruits analysis. New York: **Spriger-Verlag**, 1995. p.81-94.

LAMIKANRA, O. **Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market**. CRC Press LLC New York Washington, D. C. 2002.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Rima Artes e Textos, 2000. 531p.

LUENGO, R.F.A.; CALBO, A.G. **Armazenamento de hortaliças**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2001. 242p.

MANTILLA, S.P.S.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. Rev. Acad., **Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 437-448, out./dez. 2010.

MATOS, P.N.; ARAÚJO, H.G.G.S.; FURTADO, M.C.; MENEZES, Y.B.S.; CASTRO, A.A.; CARNELOSSI, M.A.G. Conservação de salada mista minimamente processada composta por rúcula e alface americana [resumo]. VI ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO. 2011.

MATTIUZ, B.H.; DURIGAN, J.F.; ROSSI JÚNIOR, O.D. Processamento mínimo em goiabas “Paluma” e “Pedro Sato”. 2. Avaliação química, sensorial e microbiológica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 23 (3): 409-413, set-dez, 2003.

- MAZZAFERA, P.; GONÇALVES, K.V.; SHIMIZU, M.M. Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. **Scientia Agricola**, v.59, n.4, p.695-700, out./dez. 2002.
- MAYER, A.M. Polyphenol oxidases in plants – recent progress. **Phytochemistry**. 26, 11-20, 1987.
- MAYER-MIEBACH, E.; GARTNER, U.; GROBMANN, B.; WOLF, W.; SPIEB, W.E.L. Influence of low temperature blanching on the content of valuable substances and sensory properties in ready-to-use salads. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 215-217, 2003.
- MELO, M.F.; LANA, M.M.; SANTOS, F.F.; LUENGO, R.F.A.; MATOS, M.J.L.F.; TAVARES, S.A. **Alface**. 2012. EMBRAPA hortaliças. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/dicas_ao_consumidor/alface.htm>. Acesso em: 25 abr. 2012.
- MELLO, M.R.F. **Eficiência de indutores e antibióticos no controle da podridão mole em couve-chinesa**. 2009. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2009.
- MENOLLI, L.N. **Atuação das enzimas oxidativas em raízes de batata baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) submetidas a injúria por frio**. 2006. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- MORAIS, A.S.; MAIA, G.A.; FIGUEIREDO, R.W.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; MOURA, C.F.H. Armazenamento refrigerado sob atmosfera modificada de pedúnculos de cajueiro-anão-precoces dos clones CCP-76, end-157, end-183 e end-189. **Rev. Bras. Frutic.** 2002, v. 24, n.3, p. 647-650.
- MORETTI, C.L. Panorama do processamento mínimo de frutas e hortaliças. In: MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA hortaliças, 2007. Cap. 1, p. 25-40.
- NGUYEN-THE, C., CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. **Crit. Rev. Food Sci. Nut.**, v. 34, n. 4, p. 371-401, 1994.
- NUNES, E.E.; VILAS BOAS, V.B.; XISTO, A.L.R.P.; VILAS BOAS, B.M. Qualidade de mandioquinha-salsa minimamente processada e armazenada sob atmosfera modificada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.2185-2190, out, 2009.
- OKEY, E.N.; DUNCAN, E.J.; SIRJU-CHARRAN, G.; SREENIVASAN, T.N. *Phytophthora* Canker Resistance in Cacao: Role of Peroxidase, Polyphenoloxidase and Phenylalanine Ammonia-lyase. **J. Phytopathology**, v. 145, p. 295-299, 1997.
- ORDOÑEZ, J.A. (Org.). **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294 p.

PALOU, E.; LÓPES-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; WELTI-CHAVES, J.; SWANSON, B.G. **Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree.** J. Food Sci. v. 64, n. 1, p.42-5., 1999.

PEREZ R.; RAMOS A.M.; BINOTI M.L.; SOUSA P.H.M.; MACHADO G.M.; CRUZ I.B. Perfil dos consumidores de hortaliças minimamente processadas de Belo Horizonte. **Horticultura Brasileira** 26: 441-446, 2008.

PILON, L. **Estabelecimento da vida útil de hortaliças minimamente processadas sob atmosfera modificada e refrigeração.** 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

PINELI, L.L.O.; MORETTI, C.L.; ALMEIDA, G.C.; ONUKI, A.C.A.; NASCIMENTO, A.B.G. Caracterização química e física de batatas “Ágata” minimamente processadas, embaladas sob diferentes atmosferas modificadas ativas. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.40, n.10, p.1035-1041, out. 2005.

PIROVANI, M.E. Quality of minimally processed letucce as influenced by packaging and chemical treatment. **Journal of Food Quality**, v.22, p.475-484, 1998.

PONELEIT, L.S.; DILLEY, D.R. Carbon dioxide activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase in ethylene biosynthesis. **Postharvest Biology and Technology**. v. 3, p. 191-199, 1993.

REID, M.S. Ethylene in postharvest technology. In: KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3. ed. California: University of California, 2002. Cap. 16, p. 149-162.

REINOSO, A.C.L. **Efeito da atmosfera modificada ativa sobre a conservação de salada mista contendo alface americana (*Lactuca sativa* var. “Tainá”), acelga (*Beta vulgaris* L. var. *Cicla*) e alface roxa (*Lactuca sativa* var. *Pira Roxa*) minimamente processada.** 2011. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2011.

ROLLE, R., CHISM, G.W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **J. Food Quality**, v. 10, p. 157-65, 1987.

ROVERSI, R.M.; MASSON, M.L. Qualidade sensorial da alface crespa minimamente processada embalada em diferentes filmes plásticos sob atmosfera modificada. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 4, p. 824-832, jul./ago., 2005.

SANTOS, A.F.; SILVA, S.M.; ALVES, R.E. Armazenamento de pitanga sob atmosfera modificada e refrigeração: I-transformações químicas em pós-colheita. **Rev. Bras. Frutic.** 2006, vol.28, n.1, p. 36-41.

SANTOS, J.C.B.; VILAS BOAS, E.V.B.; PRADO, M.E.T.; PINHEIRO, A.C.M. Avaliação da qualidade do abacaxi “Pérola” minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, vol.29, n.2, p. 353-361, 2005.

SANTOS, S.F. **Uso de atmosfera modificada em salada de cenoura e repolho minimamente processados**. 2007. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de alimentos) - Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2007.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.. Embalagem. In: CENCI, S. A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistema de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. Cap. 4, p. 59-69.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, É. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA, 2001. v. 2, 213p.

SILVA, M.V.; ROSA, C.I.L.F.; VILAS BOAS, E.V.B. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **B.ceppa**, Curitiba, v. 27, n. 1, p.83-96, 2009. Disponível em: <ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/alimentos/article/download/.../10044>. Acesso em: 13 out. 2011.

SILVA, P.R. Uma abordagem sobre o mercado de hortaliças minimamente processadas. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 38, n. 4, p.52-57, abr. 2008. Disponível em: <[ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/publicacoes/tec5-0408.pdf](http://ftp.sp.gov.br/ftpiea/publicacoes/tec5-0408.pdf)>. Acesso em: 06 out. 2011.

SIMÕES, A.N. **Alterações químicas e atividades de enzimas em folhas de couve inteiras e minimamente processadas**. 2004. Tese (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

SIMÕES, A.N., COSTA, F.B. CARNELOSSI, M.A.G., SILVA, E.O., PUSCHMANN, R. Estratégias pra reduzir o estresse do processamento mínimo. **Visão Agrícola**, v. 7, p. 92-97, USP ESALQ. jan/jun/2007.

SOARES, A. G.; FONSECA, M. J. O. Alimentos minimamente processados e filmes comestíveis. In: ROSENTHAL, A. (Editor técnico). **Tecnologia de alimentos e inovação: tendências e perspectivas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. Cap. 9, p. 117-131.

SOARES, N.F.F. **Efeito da embalagem na conservação de produtos minimamente processados**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 6 p. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/novidade/eventos/semipos/texto10.pdf>>. Acesso em: 09 out. 2011.

SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R.M. Embalagens. In: MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA hortaliças, 2007. Cap. 6, p. 153-171.

SOLOMOS, T. Principios físicos y biológicos del envasado em atmósferas modificadas. In: WILEY, R.C. **Frutas y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997. Cap. 5, p. 179-220.

SOUZA, J.F. **Alterações bioquímicas e fisiológicas de salada mista minimamente processada composta por alface americana, alface roxa e acelga.** 2010. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2010.

SOUZA, V.A.; NEVES, K.A.F.D. **Extração e caracterização de enzimas.** Disponível em: <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/enzimas.htm>. Acesso em: 22 fev. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 722p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 4. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2009. 819p.

THOMPSON, A.K. **Controlled atmosphere storage of fruits and vegetables.** 2. ed. Cambridge: Cab International, 2010.

VELASCO, P.J.; LIM, M.H.; PANGBORN, R.M.; WHITAKER, J.R. 1989. Enzymes responsible for off-flavor and off-aroma in blanched and frozen stored vegetables. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 11: 118-127.

VITT, M.C.D.; SASAKI, F.F.; MIGUEL, P.; JACOMINO, A.P.; MORETTI, C.L.; KLUGE, R.A. Atividade respiratória e aspectos microbiológicos de cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas. **Ciência Rural.** 2010, v.40, n.1, pp. 208-212. Epub Nov 27, 2009.

ZAGORY, D. What modified atmosphere packaging can and can't do for you. **ANNUAL POSTHARVEST CONFERENCE & TRADE SHOW**, 16th, March 14 & 15, 2000, Washington State University, Yakima Convention Center. **Anais...** Washington State University, 2000.

WATADA, A.E., KO, N.P., MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Posth.Biol. Tech.** v. 9, n. 2, p.115-26, 1996.

WATADA, A.E.; ABE, K.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Tech.** v. 44, p. 116-122, 1990.

YIP, W.K.; JIAO, X.Z.; YANG, S.F. Dependence of in vivo ethylene production rate on 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content and oxygen concentrations. **Plant Physiol.** v. 88, p. 553-558, 1988.